

**1-ARİL-3-(2-HİDROKSİETİLTİYO)-1-PROPANONLARIN  
SENTEZİ, SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE İNDEKSİ VE  
OLASI ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

**Elif ÜNLÜER**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı**

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

**Yüksek Lisans Tezi-2012**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**1-ARİL-3-(2-HİDROKSİETİLTİYO)-1-PROPANONLARIN  
SENTEZİ, SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE İNDEKSİ  
VE OLASI ETKİ MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

**Elif ÜNLÜER**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

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

**ERZURUM**

**2012**

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

**1-ARİL-3-(2-HİDROKSİETİLTİYO)-1-PROPANONLARIN SENTEZİ,  
SİTOTOKSİSİTESİ, SELEKTİVİTE İNDEKSİ VE OLASI ETKİ  
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

**Elif ÜNLÜER**

**Tez Savunma Tarihi:** 28.12.2012

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

**Jüri Üyesi** : 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)

*İnci Gül*  
*İnci Gül*  
*Ebru Mete*  
*Kadir Özden Yerdelen*

**Onay**

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

*Y. Selim Sağlam*

**Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM**

Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi**

**ERZURUM - 2012**

# İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....   | IV  |
| <b>ÖZET</b> .....   | V   |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | VI  |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....   | VII |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....  | IX  |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b> .....  | XII |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....   | 1   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....  | 3   |
| 2.1. Kanser .....   | 3   |
| 2.1.1. Kanserin Tarihçesi .....   | 5   |
| 2.1.2. Antikanser İlaçların Sınıflandırılması.....  | 6   |
| 2.1.3. Alkilyici Bileşikler ve Etki Mekanizması .....   | 9   |
| 2.2. Mannich Reaksiyonu .....   | 10  |
| 2.3. $\alpha$ , $\beta$ -Doymamış Ketonlar .....  | 14  |
| 2.4. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katımı.....   | 15  |
| 2.4.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması.....  | 16  |
| 2.5. İlaç Tasarlama da Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi .....  | 16  |
| 2.5.1. Hammett Korelasyonu .....  | 17  |
| 2.5.2. Hansch Analizi.....  | 18  |
| 2.5.2.1. Dağılım (Partisyon) Katsayısı (P).....   | 19  |
| 2.5.2.2. İyonlaşma Sabiti ( $K_a$ ) .....   | 20  |
| 2.6. İlaç Tasarlama da Topliss Yaklaşımı.....   | 21  |
| 2.7. Biyoaktivite Testleri .....  | 22  |
| 2.7.1. Sitotoksik Aktivitenin Tayini Amacıyla Kullanılan Biyoaktivite Testleri .....                                      | 22  |
| 2.7.2. PARP1 Yapışma Testi .....  | 22  |
| <b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....   | 24  |
| 3.1. Kimyasallar ve Yöntemler .....   | 24  |
| 3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar .....   | 24  |
| 3.1.2. Yöntemler .....  | 24  |
| 3.2. Sentez Yöntemleri ve Spektrumlar .....   | 25  |
| 3.2.1. 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (A1-A9) Kimyasal Yapısına Sahip Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemi .....  | 25  |
| 3.2.2. 1-Aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (B1-B9) Kimyasal Yapısına Sahip Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemi ..... | 26  |
| 3.2.3. 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon Kimyasal Yapısına Sahip Bileşiklerin Sentezi .....                        | 27  |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.2.3.1. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-fenilpropanon (EU1) Bileşiminin A1 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....            | 27        |
| 3.2.3.2. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-fenilpropanon (EU1) Bileşiminin B1 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....            | 28        |
| 3.2.3.3. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metilfenil)propanon (EU2) Bileşiminin A2 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....   | 31        |
| 3.2.3.4. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metilfenil)propanon (EU2) Bileşiminin B2 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....   | 31        |
| 3.2.3.5. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) Bileşiminin A3 Bileşiminden Hareketle Sentezi ..... | 34        |
| 3.2.3.6. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) Bileşiminin B3 Bileşiminden Hareketle Sentezi ..... | 34        |
| 3.2.3.7. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-florofenil)propanon (EU4) Bileşiminin A4 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....   | 37        |
| 3.2.3.8. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-florofenil)propanon (EU4) Bileşiminin B4 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....   | 37        |
| 3.2.3.9. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-klorofenil)propanon (EU5) Bileşiminin A5 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....   | 40        |
| 3.2.3.10. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-klorofenil)propanon (EU5) Bileşiminin B5 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 40        |
| 3.2.3.11. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-bromofenil)propanon (EU6) Bileşiminin A6 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 43        |
| 3.2.3.12. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-bromofenil)propanon (EU6) Bileşiminin B6 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 43        |
| 3.2.3.13. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) Bileşiminin A7 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 46        |
| 3.2.3.14. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) Bileşiminin B7 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 46        |
| 3.2.3.15. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) Bileşiminin A8 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....    | 49        |
| 3.2.3.16. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) Bileşiminin B8 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....    | 49        |
| 3.2.3.17. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) Bileşiminin A9 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 52        |
| 3.2.3.18. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) Bileşiminin B9 Bileşiminden Hareketle Sentezi .....  | 52        |
| 3.3. Biyoaktivite Çalışmaları .....  | 55        |
| 3.3.1. Gereç ve Yöntem .....   | 55        |
| 3.3.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi .....   | 55        |
| 3.3.3. PARP1 Yapışma Testi .....   | 56        |
| <b>4.BULGULAR</b> .....  | <b>57</b> |
| 4.1. Deneysel ve Spektrel Bulgular .....   | 57        |

|  |    |
|--|----|
| 4.2. Biyoaktivite Bulguları.....         | 57 |
| <b>5. TARTIŞMA</b> .....                 | 64 |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....        | 67 |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....                   | 68 |
| <b>EKLER</b> .....                       | 77 |
| <b>EK-1. ÖZGEÇMİŞ</b> .....              | 77 |
| <b>EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU</b> ..... | 78 |

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. H. İnci GÜL'e,

<sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumlarımı alan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi'nin değerli kadrosuna, TOF-MS spektrumlarımı alan Yrd. Doç. Dr. Murat ŞÜKÜROĞLU'na (Gazi Üniversitesi, Ankara), hücre kültürü ile ilgili çok detaylı çalışmaları büyük bir özen ve hassasiyetle gerçekleştiren Prof. Sakagami ve Yrd. Doç. Dr. Umemura'ya (Meikai Üniversitesi, Japonya),

Bu çalışmayı 2010/166 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne,

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Elif ÜNLÜER

## ÖZET

### 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanonların Sentezi, Sitotoksitesi, Selektivite İndeksi ve Olası Etki Mekanizmasının Araştırılması

**Amaç.** Bu tez kapsamında kimyasal yapısı 1-aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (A1-A9) ve 1-aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (B1-B9) olan bileşiklerden hareketle kimyasal yapısı 1-aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon (EU1-EU9) olan bileşikler sitotoksik/antikanser etkili yeni bileşikler bulmak amacıyla sentezlenmiştir.

**Materyal ve Metot.** EU1-EU9 bileşikleri, karşılık gelen A ve B serisi bileşiklerden hareketle 2-merkaptolanol ile pH'ı 7.4 olan fosfat tamponda, 1:1 mol oranlarında reaksiyona sokularak 37 °C'de sentez edilmiştir. Bileşiklerin sitotoksiteleri kanserli hücre hatları (HSC-2, HSC-3, HSC-4, HL-60) ve normal hücre hatlarına (HGF, HPC, HPLF) karşı MTT yöntemi ile test edilmiştir.

**Bulgular.** Reaksiyonların verimleri A seri için % 58-89, B seri için % 19-89 arasında değişmektedir. Bileşiklerin kimyasal yapıları <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve TOF-MS ile aydınlatılmıştır. Bileşik EU1, EU7, EU8 ve EU9 viskoz sıvı halde, diğer bileşikler ise katı halde elde edilmişlerdir. Bileşikler test edilen kanserli hücre hatlarına karşı sitotoksite göstermiş. Ancak söz konusu bileşikler normal hücre hatlarına karşı da sitotoksite gösterdiğinden sitotoksite SI düşük bulunmuştur. SI en yüksek bileşik olan EU9 bileşiği PARP1 yapışma testine tabi tutulmuş ve bileşiklerin etki mekanizmasında PARP1 yapışmasının rol oynayabileceği düşünülmüştür.

**Sonuç.** Sentez başlangıç maddeleri A1-A9 ve B1-B9'ların sitotoksik etki mekanizmasında tiyol alkilasyonunun rol oynayabileceği, EU1-EU9 bileşiklerinin sitotoksitesinde PARP1 yapışmasının kısmen etkili olabileceği sonucuna varılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin SI'nin düşük olması ileriki sentezlerde farklı moleküler modifikasyonlar gerektiğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** HSC-2, HSC-3, HSC-4, HL-60, HGF, HPC, HPLF, PARP1 test, sitotoksik aktivite, tiyol alkilasyon.



## ABSTRACT

### **Synthesis of 1-Aryl-3-(2-hydroxyethylthio)-1-propanones and the Investigation of their Cytotoxicity, Selectivity Index and Possible Mechanism of Action**

**Aim.** In this study, to find new compounds with cytotoxic/anticancer effects, a series of the compounds, which have a chemical structure of 1-aryl-3-(2-hydroxyethylthio)-1-propanone (EU1-EU9), were synthesized by using the compounds of 1-aryl-3-morpholino-1-propanone hydrochloride (A1-A9) and 1-aryl-3-morpholino-1-propanone hydrochloride (B1-B9).

**Materials and Methods.** EU1-EU9 compounds were successfully synthesized starting from the corresponding series A and B by reactions at 1:1 mol ratio at 37 °C in phosphate buffer (pH 7.4) with 2-mercaptoethanol. The cytotoxicity of the compounds were tested against both malignant and normal cell lines using MTT test.

**Results.** The yields of the reactions were 58-89 % for series A and 19-89 % for series B. Chemical structures of the compounds have been identified by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, and TOF-MS. Compounds EU1, EU7, EU8 and EU9 were obtained in viscous liquid, while other compounds were obtained in solid form. The compounds tested against cancer cell lines had cytotoxicity, while they were also cytotoxic against normal cells. Therefore, SI was found to be low. The compound EU9, which was found to have the highest selectivity index in series, was tested with PARP1 cleavage assay and the mechanism of cytotoxicity was partially identified.

**Conclusion.** In this thesis, all of the compounds designed were synthesized successfully. Thiol alkylation may play a role in the cytotoxicity of the starting compounds A1-A9 and B1-B9. PARP-1 cleavage may play a partial role in the cytotoxicity of the compounds EU1-EU9. Low selectivity index of the compounds synthesized in this thesis suggests that different molecular modifications may be required for future synthesis studies.

**Key Words:** HSC-2, HSC-3, HSC-4, HL-60, HGF, HPC, HPLF, PARP1 test, cytotoxic activity, thiol alkylation.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|  |   |                                     |
|--|---|-------------------------------------|
| <b>bs</b>                                  | : | Broad Singlet                       |
| <b>dk</b>                                  | : | Dakika                              |
| <b>DMSO</b>                                | : | Dimetilsülfoksit                    |
| <b>Et<sub>2</sub>O</b>                     | : | Dietileter                          |
| <b>DNA</b>                                 | : | Deoksiribonükleik Asit              |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>                    | : | Döterokloroform                     |
| <b>d</b>                                   | : | Dublet                              |
| <b>dd</b>                                  | : | Dubletin dubleti                    |
| <b>FBS</b>                                 | : | Fetal Bovin Serum                   |
| <b>FU</b>                                  | : | Florourasil                         |
| <b>g</b>                                   | : | Gram                                |
| <b>Hz</b>                                  | : | Hertz                               |
| <b>İTK</b>                                 | : | İnce Tabaka Kromatografisi          |
| <b>CC<sub>50</sub></b>                     | : | %50 İnhibe Edici Konsantrasyon      |
| <b>J</b>                                   | : | Jiromanyetik Sabiti                 |
| <b>QSAR</b>                                | : | Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>                    | : | Kloroform                           |
| <b>MeOH</b>                                | : | Metanol                             |
| <b>μM</b>                                  | : | Mikromolar                          |
| <b>ml</b>                                  | : | Mililitre                           |
| <b>mmol</b>                                | : | Milimol                             |
| <b>ppm</b>                                 | : | Milyonda Bir Kısım                  |
| <b>m</b>                                   | : | Multiplet                           |
| <b>SN<sub>1</sub> &amp; SN<sub>2</sub></b> | : | Nükleofilik Süstitüsyon             |

|                           |   |   |
|---------------------------|---|---|
| <b><sup>1</sup>H-NMR</b>  | : | <sup>1</sup> H Nükleer Manyetik Rezonans  |
| <b><sup>13</sup>C-NMR</b> | : | <sup>13</sup> C Nükleer Manyetik Rezonans |
| <b>HSC</b>                | : | Oral Hücre Karsinomaları                  |
| <b>HPLF</b>               | : | Peridontal Ligament Fibroblastlar         |
| <b>HGF</b>                | : | Gingival Fibroblastlar                    |
| <b>RNA</b>                | : | Ribonükleik Asit                          |
| <b><sup>0</sup>C</b>      | : | Santigrad                                 |
| <b>s</b>                  | : | Singlet                                   |
| <b>TOF-MS</b>             | : | Time-of-Flight Kütle Spektrumu            |
| <b>t</b>                  | : | Triplet                                   |
| <b>UV</b>                 | : | Ultraviyole                               |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil No</u>  | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| Şekil 2.1. Alkilleyici bileşikler .....  | 7               |
| Şekil 2.2. Antimetabolit bileşikler .....  | 8               |
| Şekil 2.3. Monoaminometilasyon sonucu oluşan mono-Mannich bazı .....   | 11              |
| Şekil 2.4. Diaminometilasyon sonucu oluşan bis-Mannich bazı .....  | 11              |
| Şekil 2.5. Sikloheksanonun asit katalizli aminometilleme tepkime mekanizması .....                                   | 11              |
| Şekil 2.6. Sikloheksanonun baz katalizli aminometilleme tepkime mekanizması .....                                    | 12              |
| Şekil 2.7. Doymamış bir Mannich bazının tiyollerle reaksiyonu örneklendirilmiştir ...                                | 13              |
| Şekil 2.8. $\alpha$ , $\beta$ -Doymamış ketonlar .....   | 14              |
| Şekil 2.9. Michael katım tepkimesinde rezonans .....   | 15              |
| Şekil 2.10. Dissosiyasyon tiyollerin Michael katım mekanizması .....   | 16              |
| Şekil 2.11. Nondissosiyasyon tiyollerin Michael katım mekanizması .....  | 16              |
| Şekil 2.12. İlaç tasarlamada topliss yaklaşımını açıklayan karar ağacı .....   | 23              |
| Şekil 3.1. 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip<br>bileşiklerin genel formülleri .....  | 25              |
| Şekil 3.2. 1-Aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip<br>bileşiklerin genel formülleri ..... | 26              |
| Şekil 3.3. 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyolo)-1-propanon kimyasal yapısına sahip bileşiklerin<br>genel formülleri ..... | 27              |
| Şekil 3.4. EU1 bileşiğinin A1 bileşiğinden hareketle sentezi .....   | 27              |
| Şekil 3.5. EU1 bileşiğinin B1 bileşiğinden hareketle sentezi .....   | 28              |
| Şekil 3.6. EU1 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu .....  | 29              |
| Şekil 3.7. EU1 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu .....   | 29              |
| Şekil 3.8. EU1 bileşiğinin kütle spektrumu .....   | 30              |

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 3.9.</b> EU2 bileşiğinin A2 bileşiğinden hareketle sentezi.....  | 31 |
| <b>Şekil 3.10.</b> EU2 bileşiğinin B2 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 32 |
| <b>Şekil 3.11.</b> EU2 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....     | 32 |
| <b>Şekil 3.12.</b> EU2 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....    | 33 |
| <b>Şekil 3.13.</b> EU2 bileşiğinin kütle spektrumu.....                   | 33 |
| <b>Şekil 3.14.</b> EU3 bileşiğinin A3 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 34 |
| <b>Şekil 3.15.</b> EU3 bileşiğinin B3 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 35 |
| <b>Şekil 3.16.</b> EU3 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....     | 35 |
| <b>Şekil 3.17.</b> EU3 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....    | 36 |
| <b>Şekil 3.18.</b> EU3 bileşiğinin kütle spektrumu.....                   | 36 |
| <b>Şekil 3.19.</b> EU4 bileşiğinin A4 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 37 |
| <b>Şekil 3.20.</b> EU4 bileşiğinin B4 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 38 |
| <b>Şekil 3.21.</b> EU4 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....     | 38 |
| <b>Şekil 3.22.</b> EU4 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....    | 39 |
| <b>Şekil 3.23.</b> EU4 bileşiğinin kütle spektrumu.....                   | 39 |
| <b>Şekil 3.24.</b> EU5 bileşiğinin A5 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 40 |
| <b>Şekil 3.25.</b> EU5 bileşiğinin B5 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 41 |
| <b>Şekil 3.26.</b> EU5 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....     | 41 |
| <b>Şekil 3.27.</b> EU5 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....    | 42 |
| <b>Şekil 3.28.</b> EU5 bileşiğinin kütle spektrumu.....                   | 42 |
| <b>Şekil 3.29.</b> EU6 bileşiğinin A6 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 43 |
| <b>Şekil 3.30.</b> EU6 bileşiğinin B6 bileşiğinden hareketle sentezi..... | 44 |
| <b>Şekil 3.31.</b> EU6 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....     | 44 |
| <b>Şekil 3.32.</b> EU6 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....    | 45 |
| <b>Şekil 3.33.</b> EU6 bileşiğinin kütle spektrumu.....                   | 45 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 3.34.</b> EU7 bileşiğinin A7 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 46 |
| <b>Şekil 3.35.</b> EU7 bileşiğinin B7 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 47 |
| <b>Şekil 3.36.</b> EU7 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....   | 47 |
| <b>Şekil 3.37.</b> EU7 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....  | 48 |
| <b>Şekil 3.38.</b> EU7 bileşiğinin kütle spektrumu.....   | 48 |
| <b>Şekil 3.39.</b> EU8 bileşiğinin A8 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 49 |
| <b>Şekil 3.40.</b> EU8 bileşiğinin B8 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 50 |
| <b>Şekil 3.41.</b> EU8 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....   | 50 |
| <b>Şekil 3.42.</b> EU8 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....  | 51 |
| <b>Şekil 3.43.</b> EU8 bileşiğinin kütle spektrumu.....   | 51 |
| <b>Şekil 3.44.</b> EU9 bileşiğinin A9 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 52 |
| <b>Şekil 3.45.</b> EU9 bileşiğinin B9 bileşiğinden hareketle sentezi.....   | 53 |
| <b>Şekil 3.46.</b> EU9 bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....   | 53 |
| <b>Şekil 3.47.</b> EU9 bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu .....  | 54 |
| <b>Şekil 3.48.</b> EU9 bileşiğinin kütle spektrumu.....   | 54 |
| <b>Şekil 4.49.</b> EU9 bileşiğinin kanserli (HSC2) ve normal (HGF) hücre hatları üzerinde 50<br>µM konsantrasyonda 24 saatteki etkisi ..... | 63 |

## TABLolar DİZİNİ

| <b><u>Tablo No</u></b>   | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|--|------------------------|
| <b>Tablo 2.1.</b> Benin ve malin hücrelerin farkları .....   | 4                      |
| <b>Tablo 4.1.</b> 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiy)-1-propanon bileşiklerinin A1-A9<br>bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler.....  | 58                     |
| <b>Tablo 4.2.</b> 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiy)-1-propanon bileşiklerinin B1-B9 bileşiklerinden<br>hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler.....  | 58                     |
| <b>Tablo 4.3.</b> 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiy)-1-propanon kimyasal yapısına sahip bileşiklerin<br>A ve B serisi başlangıç maddelerinden hareketle sentezine ilişkin reaksiyon<br>süre ve verimlerinin karşılaştırılması..... | 59                     |
| <b>Tablo 4.4.</b> Sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup> H-NMR sonuçları.....   | 60                     |
| <b>Tablo 4.5.</b> Sentezlenen bileşiklerin <sup>13</sup> C-NMR sonuçları.....  | 61                     |
| <b>Tablo 4.6.</b> Sentezlenen bileşiklerin TOF-MS sonuçları.....   | 61                     |
| <b>Tablo 4.7.</b> EU1-EU9 bileşiklerinin sitotoksitesitesi.....  | 62                     |

# 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. Bu alanda maliyeti yüksek araştırmalar ve yeni tedavi seçenekleri hızla artsa da kanserli hastaların iyileşme oranları ancak %20-25 oranında sağlanabilmektedir.<sup>1</sup>

Tedavide asıl amaç, kanseri tümüyle iyileştirmek olması gerekirken, bu gerçekleştirilmesi çok düşük bir ihtimaldir. Gerçekçi amaç hastanın yaşam süresi ve kalitesini artırmak olabilir. Günümüzde kanserli bir hastanın tedavisinde cerrahi ve ışın tedavisi öncelikli olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tedavilere ek olarak kemoterapi de sıklıkla uygulanmaktadır. Kemoterapi, genellikle çok sayıda ilaçla gerçekleştirilen, kanser hücrelerini öldürmek amacıyla uygulanan tedavidir. Kemoterapide kanser hücrelerini ortadan kaldıran ilaçlar kullanılır. İdeal ilacın normal hücrelere zarar vermeden sadece kanser hücrelerini öldürmesi beklenir, ancak bu özellik şu anda klinikte kullanılan ilaçların çoğunda bulunmaz. Çünkü malin kanser hücresi ile normal insan hücresi arasında nicelik olarak çok fark yoktur. Kanser tedavileri sıklıkla sağlıklı hücre ve dokulara hasar verir. Yan etkiler temel olarak tedavinin tip ve kapsamına bağlıdır ve herkeste aynı şekilde seyretmez, hatta aynı kişide bir seanstan diğerine değişebilir. Örneğin, sitotoksik ilaçlarla gerçekleştirilen tedavi sıklıkla bulantı, kusma, iştah kaybı, zayıflama, halsizlik ve kansızlık ile enfeksiyon riski artışına yol açan kan hücrelerinde azalmaya neden olur. Kemoterapi yapılan kişilerin çoğunun saçını dökülürken, diğer yan etkiler ilaç tipine göre değişiklik gösterir. Sonuç olarak günümüzde kanserin herhangi bir şeklini tamamen tedavi edecek kimyasal bir bileşik henüz bulunamamıştır.<sup>1</sup>



Bütün bu sebeplerden dolayı dünyada kanserin kesin tedavisine yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Kanser tedavisinde amaç, hem selektif (seçici) toksisitesi artırılarak çok daha etkili bir tedaviye olanak veren hem de tedavi süreci ve sonrası ortaya çıkan birçok istenmeyen yan etkisi azaltılmış veya olmayan bileşiklerin geliştirilmesidir. Kısmen de olsa bu ihtiyacın karşılanması, bu tez kapsamında yapılan çalışmalarımızın amacını oluşturmaktadır.

1-Aril-3-morfolino / piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip bileşiklerin sitotoksik etkileri bilinmektedir. Bu bileşikler Mannich bazlarıdır. Mannich bazlarının etki mekanizmasından hücresel nükleofilleri, tiyollerini alkilemeleri sorumlu tutulmaktadır. Bu amaçla 1-aril-3-morfolino / piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip bileşiklerin etki mekanizmasının Mannich bazlarının etki mekanizmalarından biri olan tiyol alkilasyonu olup olmadığı araştırılacak, stabilite çalışmaları ile potansiyel sitotoksik maddeler olabileceği düşünülen 1-aril-3-(2-Hidroksietil)tiyo-1-propanonları sentezlenecek, bu bileşiklerin kanserli hücre hatları (HSC-2, HSC-3, HSC-4, HL-60) ve normal hücre hatları (HGF, HPC, HPLF) üzerinde sitotoksisiteyi değerlendirecek ve PARP1 testi ile olası etki mekanizması araştırılacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Çözüm bekleyen en önemli sorunlardan biri olan kanser, tam olarak tedavisi bulunamamış ve dünya da ölüm oranının yüksekliği nedeniyle gelişmiş birçok ülkede bile ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır.<sup>2, 3</sup> Piyasada mevcut antikanser ilaçlar yan etkileri, kazanılmış direnç, selektivitelerinin düşüklüğü gibi nedenlerle ihtiyaca cevap verememektedir. Bu yüzden söz konusu problemlerin çözümüne yönelik olarak sitotoksik etkili yeni bileşiklerin geliştirilmesine acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Bu gereksinimin çalışmamızın temel amacını oluşturmaktadır.

### 2.1. Kanser

Dokular ve organlar, kollagen gibi hücreler arası salgılanan maddeler ile bir arada tutulan hücre topluluklarından oluşur. Doku ve organ büyümesi hücrelerin sayısındaki artma, hücrelerin boyutlarında artma veya her ikisi birden meydana gelebilir. İnsanda hücre sayısındaki artış gelişmede en önemli etkendir.<sup>4</sup> Bir yetişkin döllenen tek bir hücreden  $10^{15}$  hücreye kadar büyür. Yeni doğandan yetişkin bir insana dek hücre boyutu 3-4 katı artsa bile, büyüme büyük ölçüde hücre sayısındaki artışa bağlıdır. İnsanlar olgunluğa ulaştıktan sonra hücre sayısı temelde sabit kalır. Ancak yetişkinlerde bile hücre bölünmesi aktif bir hızla devam eder. Her gün yaklaşık  $10^{12}$  hücre ölür ve yenilenmeleri gerekir. Ölenlerin büyük bir kısmı gastrointestinal kanal, deri, kemik iliği gibi doku ve organlardan kaynaklanır. Üretilen hücre sayısı ölen hücre sayısına eşittir. Bu basit eşitliğin bozulması normal ve anormal büyümenin anlaşılması için esastır.<sup>4</sup> Herhangi bir zaman periyodunda yapılan hücre sayısı ölen hücre sayısını aşarsa büyüme vardır.

Nedeni ne olursa olsun, kanser, hücre çoğalması ve farklılaşmasını yöneten kontrol mekanizmalarında bir sapma ile karakterize edilen bir hücre hastalığıdır. Kanserli dokularda hücreler normal hücrelerin uydukları kural ve düzenlemelere

uymadıkları için denetimsiz ve hızlı hücre çoğalması söz konusudur. Ancak akciğer kanseri, kolon kanseri ve belirli kronik lösemi türleri<sup>3</sup> yavaş büyürler. Kanserın sebebi ve oluş mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Görülme sıklığı coğrafi dağılım, cins, ırk, genetik yapı ve çevresel karsinojenlere maruz kalmakla ilişkilidir.

Birçok kanser türünün ortaya çıkışında çevresel faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak genetik faktörlerin de kanser oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir. Genel olarak genetik faktörlerin zemininde çevresel karsinojenlerin rolü olduğu ileri sürülmektedir.<sup>2</sup> Çevredeki potansiyel karsinojenlerin identifikasyonu mutajenik ajanlar için olan ames testinin yaygın kullanımıyla basitleştirilmiştir. Karsinojenlerin % 90'ının bu yöntemle dayanılarak mutajenik oldukları gösterilebilir. İyonize edici radyasyon, ultraviyole ışınları, hava kirliliği, kimyasal karsinojenler, beslenme faktörleri, sigara, alkol, virüsler, genetik faktörler gibi etkenler kanser oluşumunda etkilidirler.<sup>6</sup> Buradan kanserin tek bir sebebe değil birçok sebebe bağlı olarak gelişen bir hastalık olduğu sonucuna varılabilir. Neoplazmanın benin ve malin olmak üzere iki biyolojik davranış biçimi vardır. Bu tipteki dokuların ayırıcı özellikleri Tablo 2.1'de özetlenmiştir.<sup>3</sup>

**Tablo 2.1.** Benin ve malin hücrelerin farkları

| Benin                             | Malin                           |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Genellikle enkapsüllü             | Enkapsülsüz                     |
| Genellikle noninvaziv             | İnvaziv                         |
| Yüksek derecede farklılaşma       | Zayıf farklılaşma               |
| Ender mitoz                       | Yaygın mitoz                    |
| Anaplazi görülmez ya da çok azdır | Değişen oranda anaplazi görülür |
| Metastazik değildir               | Metastazik                      |

## **Kanserli ve Normal Hücreler Arasındaki Bazı Sitolojik Farklılıklar**

Kanserli ve normal doku hücreleri arasında saptanan kimi biyokimyasal farklılıklardan ilaç tasarlama çalışmalarında moleküllerin selektif etki göstermelerini sağlamak için yararlanılabilir. Selektivite, bir ilacın yan yana iki komşu hücre olsalar bile diğer hücre üzerinde herhangi bir etki yapmaksızın belirli türdeki hücre grubunu kuvvetli biçimde etkileyebilmesidir.<sup>7</sup> Yeni antineoplastik ilaç geliştirmede sağlıklı hücrelerin gelişmesi etkilenmeksizin kanserli hücreleri kodlayan DNA'nın selektif olarak etkilenmesi amaçlanır. Bir ilacın toksisitesi ancak selektif olduğu zaman değerlidir. Toksik etkiler reversibl veya sürekli olabilir. Selektif toksisiteyi geliştirebilmek için normal ve neoplastik hücreler arasındaki biyokimyasal farklılıkların belirlenmesi büyük önem taşır. Belirlenen bazı farklılıklar şöyle özetlenebilir;

Malin hücreler normal doku hücrelerine göre daha asidik olup, tümöral dokularda ortalama pH değeri 6.5 olarak kabul edilmektedir. Buna göre Mannich bazlarında olduğu gibi, asidik ortamda sitotoksik bileşiklere dönüşebilen bir prodrug normal dokuda toksisite oluşturamazken, tümör hücrelerinde biyoaktif metabolitler üretmek suretiyle selektif letalite gösterebilir. Kanser hücrelerinin redoks potansiyeli normal hücrelerden daha küçüktür. Larinks, dil, özefagus, mesane, kolon ve prostat karsinomu gibi belirli epitel tümörlerinde  $\gamma$ -glutamil transferaz (GGT) enzim aktivitesi normal hücrelere göre daha çok artmıştır.<sup>8</sup>

### **2.1.1. Kanser Tarihçesi**

Bilinen en eski insan kanser vakası M.Ö. 1517-1500 yılları arasında yazılmış bir Mısır belgesinde bulunmuştur. Bulgular göğüs kanserine işaret etmiştir. En eski insan kanseri örneği tunç çağından kalma dişi insan kafatasından kalan artıklarda bulunmuştur. Malin melanomanın açık lezyonları 2540 yıl öncesine ait Peru inkalarından kalma mumya iskeletinde rastlanmıştır. 1761'de Giovanni Morgagni ilk

kez olarak otopsi sonucu elde edilen patolojik bulguların hastanın hastalığıyla ilişkili olduğunu bulmuştur. 19. yüzyılda modern mikroskopun kullanıma girmesiyle onkoloji bilimi doğmuştur. Hücresel patolojinin bulucusu olan Rudolf Virchov, kanserin modern patolojik çalışması adına bilimsel bir temel oluşturmuştur. Bu metot sadece kanserin yıkıcılığını iyi anlatmakla kalmamış, aynı zamanda kanser cerrahisinde önemli gelişmelere neden olmuştur. İngiliz cerrah Stephen Paget “Tohum ve Toprak Teorisi” olarak adlandırdığı kanserin gelişimini bir teoriyle ortaya koymuştur. Bu teoriye göre metastatik tümörler tohumlardır ve bu tümörler kan dolaşımı vasıtasıyla yayılıp sadece organ (toprak) içinde büyüyebilirler. Bu yaklaşım metastazın doğru anlaşılması adına iyi bir temel oluşturmuştur. 1896 yılında Alman fizikçi Prof. Dr. Wilhelm Conrad Roentgen X-Ray ışınını keşfederek ve özellikle hastalığın teşhisinde faydalanılması adına çok önemli bir gelişmeye imza atmıştır.<sup>9-14</sup>

### **2.1.2. Antikanser İlaçların Sınıflandırılması**

Doğal veya sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavilerin tümü kemoterapinin kapsamı içindedir. Antikanser bileşikler hücre siklusuna spesifik ilaçlar (vinka alkaloidleri) veya hücre siklusuna spesifik olmayan ilaçlar (alkilleyici bileşikler) olarak hücre siklusunda etki ettikleri fazlara göre sınıflandırılabilir gibi kimyasal yapılarına ve genel etki mekanizmalarına göre de şu şekilde sınıflandırılabilir.<sup>15</sup>

#### **Alkilleyici Bileşikler**

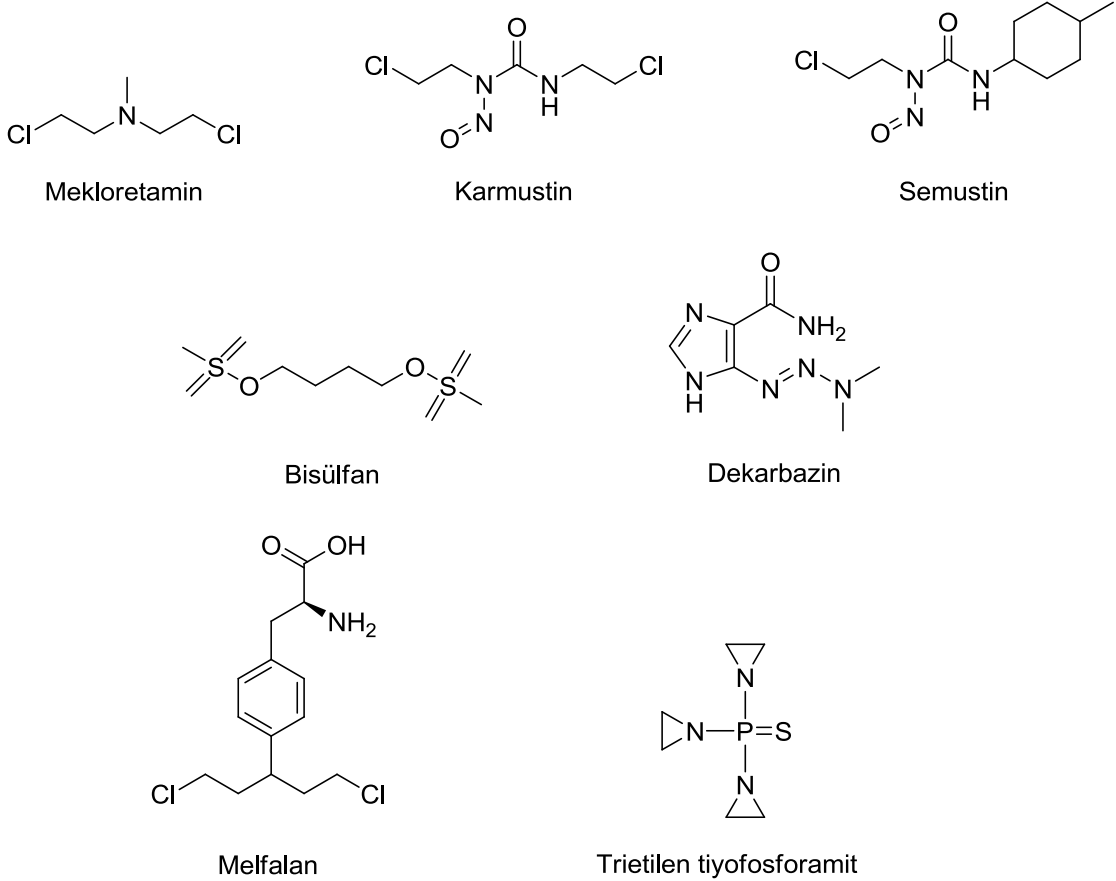
Alkilleyici bileşikler (Şekil 2.1) faza özgü olmayan sitotoksik maddeler olmalarına rağmen hücre siklusunun G1 ve S fazlarına en duyarlı olup G2 fazında blokaj gösterirler.<sup>17</sup> Sistemik toksisiteye sahip bu bileşikler şu şekilde sınıflandırılabilir:

- a) Azotlu hardallar: Mekloretilamin, melfalan, klorambusil, siklofosfamid

b) Etileniminler: Trietilenmelamin (TEM), trietilentiyofosforamit (tiyo-TEPA), hegzametilenmelamin (HMM).

c) Sülfonik asit esterleri: Busulfan

d) Nitrozoüreler: Karmustin (BCNU), kloroetilsikloheksilnitroüre (CCNU), semustin (metil-CCNU).

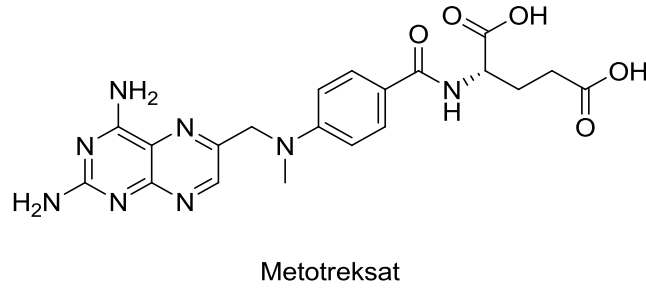
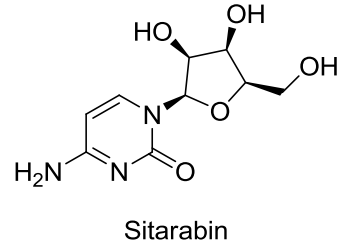


Şekil 2.1. Alkilleyici bileşikler

### Antimetabolitler

Bu ilaçlar hücre içinde ya çeşitli enzimleri inhibe ederek purin ve pirimidin sentezini durdurur ya da onların gerekli nükleozid ve nükleik asit kompleksleri içine girmelerine engel olarak DNA ve RNA sentezini önler. Bunlardan bazıları farklı kimyasal yapıda olmaları nedeniyle nükleozit ve nükleik asit bileşimlerine girmekte ve sitotoksik etki göstermektedir. Metabolizma faaliyetleri yönünden antimetabolit ilaçlar kanser hücreleri kadar belirli bir oranda normal hücreleri de etkilerler. Kanser hücreleri

ile normal hücreler arasında bugün bilinen farklılıklardan biri de hücrenin kalitatif metabolik farklılığıdır. Bu da bazı lösemik hücrelerin (özellikle lenfosit ve melanoma hücrelerinin) hücre içinde asparajin sentezi yapamamalarından kaynaklanmaktadır. Bu özellikten yararlanarak L-asparajinaz enzimi verilerek kandaki asparajini yıkmak ve hücrelere difüzyonunu önlemek mümkündür. Asparajini yitiren ve onu sentez edemeyen hücreler böylece yok edilebilmektedir. Antimetabolit ilaçlar içinde en eskisi folik asit antagonistleridir. Bu ilaçlardan aminopterin toksisitesi nedeni ile günümüzde yerini ametopterine bırakmıştır. Ametopterin pürin halkasının sentezi için gerekli olan bir karbon transferini inhibe etmek suretiyle etki gösterir.<sup>18</sup> Pürin antagonistlerinden klinikte en çok kullanılan 6-merkaptopürin ve azotiyopürin genellikle pürinlerin yeniden yapılanmasında ilk basamaklarda etkili oldukları gibi daha sonraki DNA, RNA oluşumuna kadar olan nükleotit dönemlerinde de pek çok noktada etkilidirler. Klinikte kullanılan pirimidin antagonistleri flor içeren urasil türevleridir. 5-Fluorourasil ve deoksiriboz eklenmesi ile elde edilen 5-Fluorodeoksiüridin bunların önemlileridir.



**Şekil 2.2.** Antimetabolit bileşikler

### **Antibiyotikler**

Bu grup ilaçlar arasında aktinomisin-D, daunorubidomisin, bleomisin sayılabilir. Antibiyotikler hücre kromozomu ile hücreye verilen metabolik ve işlevsel emirler zincirini bozarlar. Bu ya haberci RNA ya ribozomal RNA ya da çözünebilir RNA'yı etkileyerek olur.

### **Vinka Alkaloitleri**

Bunlar çeşitli yapıda olabilirler. Kanser tedavisinde en çok kullanılan mitostatik ilaçlar vinkristin ve vinblastin alkaloitleridir. Bunlara hücreleri mitoz döneminde etkileyerek mitozu durdurdukları için mitostatik ajanlar da denebilir.

### **Steroid hormonlar**

Steroid hormonlardan östrojen, androjen, ve progesteronlar genellikle gelişme ve büyümeleri hormonal etkilere bağlı kanser türlerinde kullanılırlar. Etkilerini doğrudan kanserli dokuyu inhibe etmek veya dolaylı olarak diğer hormon salgılarını azaltmak suretiyle ortaya koyarlar.

### **Diğer bileşikler**

Metilhidrazin, hidroksiüre, kolsemid, karboksimit (DTIC), L-asparaginaz, streptonigrin, cisplatinum.

### **2.1.3. Alkilleyici Bileşikler ve Etki Mekanizması**

Alkilleyiciler malin neoplazma tedavisinde klinik yararı ilk kez saptanan ve bugün de en yaygın kullanılan ilaç grubudur.<sup>19</sup> Alkilleyici bileşikler serbest elektron çifti ya da eksi yük taşıyan nükleofilik merkezlerle tepkimeye girebilen elektrofilik alkil katyonu üretmek suretiyle etki gösterirler. Alkilleme diye bilinen tepkime alkil katyonu ile moleküler yapı arasında kovalent bağ oluşumu ile sonuçlanır. Klinik önemi olan bazı alkilleyici ajanlar bis(2-kloroetil)amin, etilenimin veya nitrozoüre grupları içeren kimyasal yapı taşırlar. Antikanser ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında alkilleyici



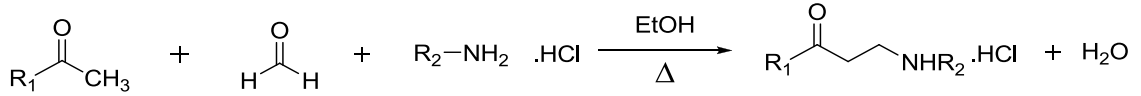
özelliğindeki farmakofor grupların aminoasitler, nükleik asit bazları, hormonlar, nitroksil radikalleri veya şeker parçaları gibi çeşitli taşıyıcı gruplara bağlanmak suretiyle molekülün etki yöresine optimum konsantrasyonda taşınmasına yönelik tasarım ve sentez çalışmaları sürdürülmektedir. Ancak bugüne kadar tam anlamıyla yöreye özgü alkilasyon başarılamamıştır.<sup>20</sup>

Bir azotlu hardal olan mekloreタミンin etki mekanizması alkilleyici bileşiklerin etki mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için verilmiştir.<sup>17</sup> Tepkime başlangıcında alkali ya da nötral pH'da kloroetil yan zincirinin birinden bir klorür anyonu ayrılarak halkalaşmış imonyum iyonu şeklinde tanımlanan bir ara ürün oluşur. Bu üç üyeli, gergin halka birinci dereceden nükleofilik süstitüsyon (SN<sub>1</sub>) tepkime mekanizmasına göre açılarak bir karbokasyon verir. Oluşan karbokasyon genellikle nükleik asitlerin guanin bazındaki N-7 azotunu alkilleyerek sitotoksik aktivite gösterir. Aynı şekilde ikinci kloroetil grubu da önce halkalaşır, daha sonra diğer bir nükleofille ya da yine guaninle tepkimeye girer. Bu tepkime DNA molekülünde heliks çiftindeki çapraz bağlanmayı koparır. Böylece DNA replikasyonu ve RNA transkripsiyonu etkilenecek hücre bölünmesi büyük ölçüde önlenir.

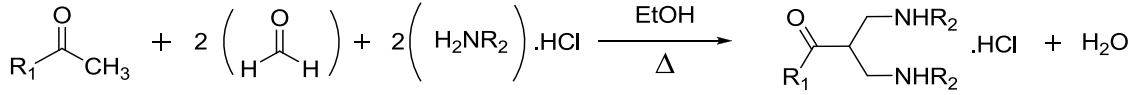
## 2.2. Mannich Reaksiyonu

$\alpha$  – Karbonuna en az bir H atomu bağlı olan ketonlar ( $\alpha$ -H taşıyan bileşikler), primer amin veya sekonder amin veya amonyak bir aldehit ile reaksiyona girerek  $\beta$ -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 2.3).<sup>21</sup> Şayet substratta birden çok aktif hidrojen atomu bulunuyorsa birden çok aminometilleme gerçekleşecektir (Şekil 2.4). İşte bu tür reaksiyonlara Mannich reaksiyonu, elde edilen ürünlere de Mannich bazı denir. Bu safhada ilk çalışmalar 1912 yılında kimyacı Carl

MANNICH tarafından gerçekleştirilmiştir.<sup>22</sup> Bu nedenle oluşan bileşiklere Mannich bazı denilmektedir.



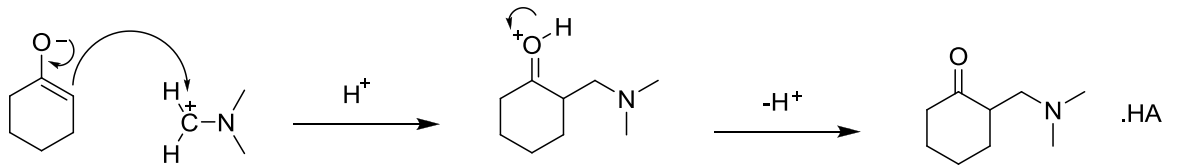
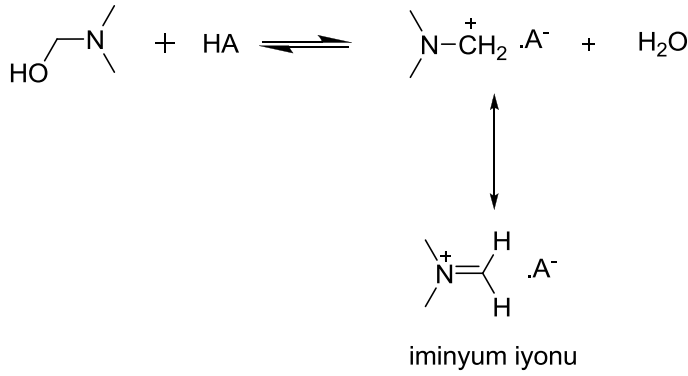
**Şekil 2.3.** Monoaminometilasyon sonucu oluşan mono-Mannich bazı



$R_1$  = Alkil veya aril       $R_2$  = Alkil veya Hidrojen

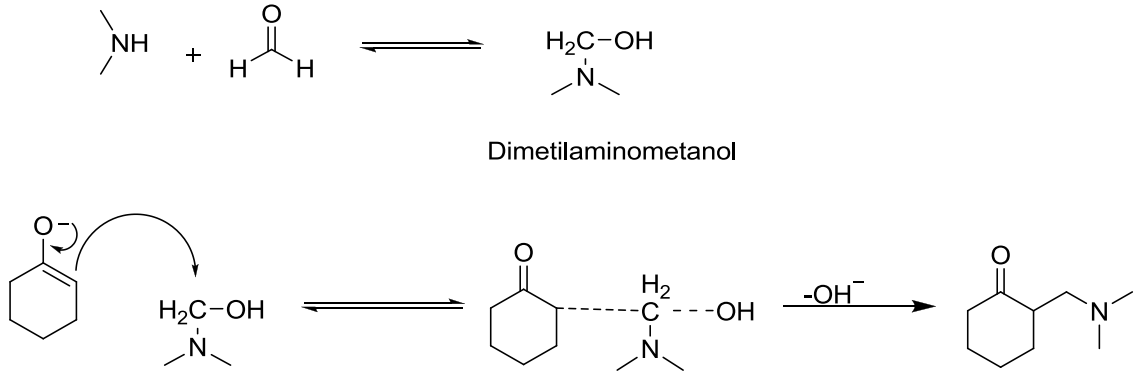
**Şekil 2.4.** Diaminometilasyon sonucu oluşan bis-Mannich bazı

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



**Şekil 2.5.** Sikloheksanonun asit katalizli aminometilleme tepkime mekanizması

Asidik koşullarda aminin büyük ölçüde tuz şeklinde bulunması tepkimenin iminyum iyonu üzerinde yürümesini sağlar (Şekil 2.5). Bazik koşullarda ise mekanizma, sadece dimetilaminometanol ara ürünündeki hidroksilin, oluşan sikloheksanon karbonyonu ile yer değiştirmesi şeklinde açıklanabilir (Şekil 2.6). Tepkime mekanizması S<sub>N</sub>2'dir.



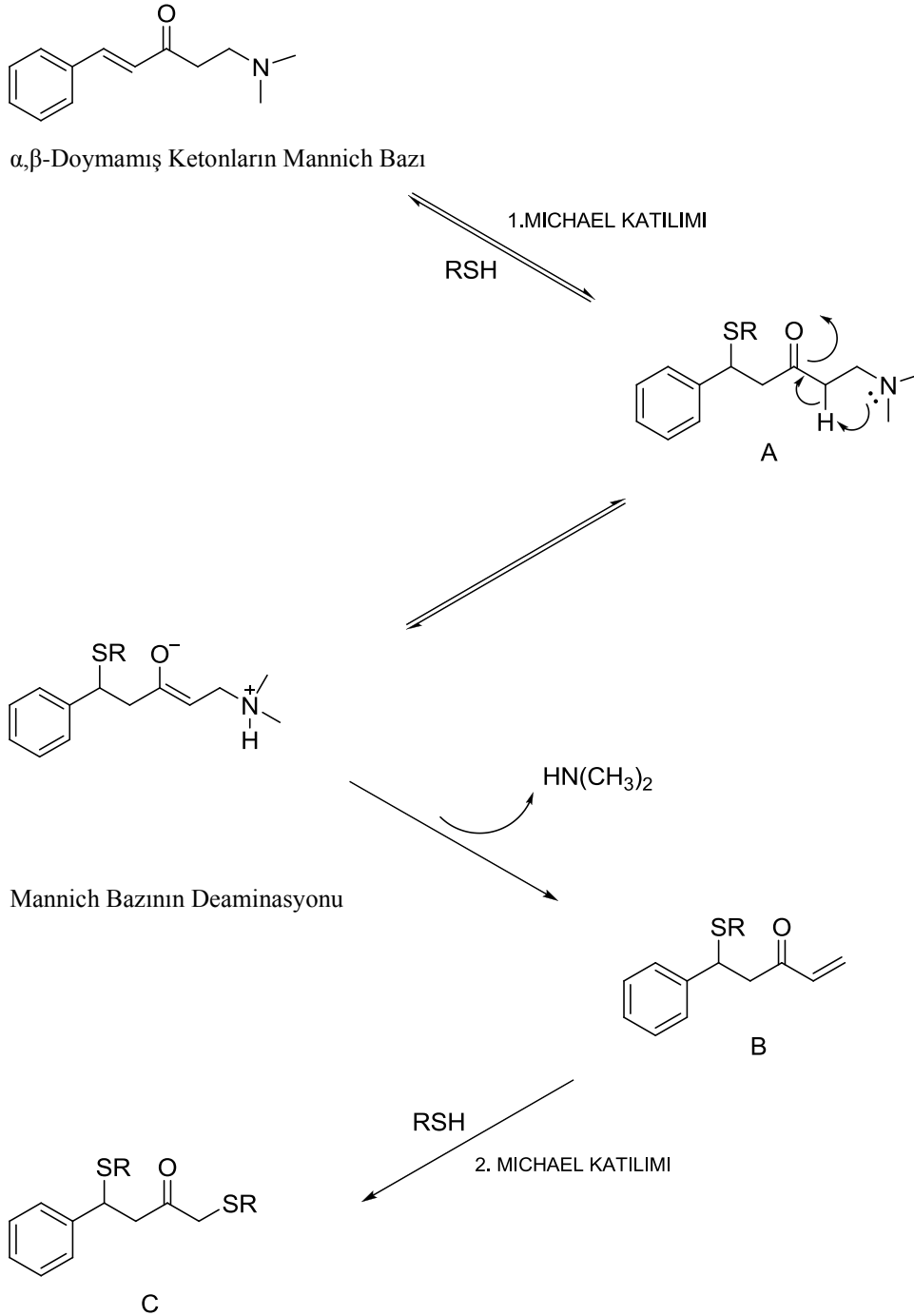
**Şekil 2.6.** Sikloheksanonun baz katalizli aminometilleme tepkime mekanizması

Mannich reaksiyonlarında genellikle formaldehit kullanılır (amino alkilleme amacıyla aril aldehitler de kullanılabilir). Aktif hidrojen bileşiği olarak ketonlar kullanılmakta ve bazı durumlarda molekül içi amino alkilasyon ile halkalı türevler de oluşabilmektedir.

Mannich bazları Michael akseptörü olan  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların prodrugları olarak dizayn edilirler.<sup>23</sup> Mannich bazlarının sitotoksik,<sup>24-27</sup> antikanser,<sup>28,29</sup> analjezik,<sup>30,31</sup> antienflamatuar,<sup>31-33</sup> diüretik,<sup>34,35</sup> antimikrobiyal,<sup>36,37</sup> antikonvulzan,<sup>38,39</sup> antimalaryal,<sup>40,</sup><sup>41</sup> antiviral<sup>42</sup> ve antifungal<sup>42,43</sup> gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir.

Antikanser ve sitotoksik ajan olarak stiril ketonların konjuge Mannich bazları hazırlanmıştır.<sup>44</sup> 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.<sup>45</sup> Bu sebeple Mannich bazlarının genotoksik özelliklerden yoksun olduğu düşünülür.

Şekil 2.4'de 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 hücrelere normal dokulardan daha fazla zarar verdiği ve oluşan sitotoksitenin sebebi olabileceği ifade edilmektedir.<sup>46</sup>



**Şekil 2.7.** Doymamış bir Mannich bazının tiyollerle reaksiyonu örneği

Enonların Mannich bazlarının hazırlandığı bir çalışmada bu bileşiklerin P388 ve L1210 hücre hatlarına karşı prekürsör keton bileşiğinden daha fazla sitotoksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.<sup>47</sup>

Sitotoksik aktivite artışı Mannich bazlarının fizikokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinden kaynaklanabilir.

Bu özelliklerden bazıları;

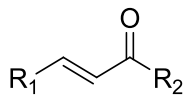
1. Sudaki çözünürlük arttırıldığından aktif bileşiklerin daha iyi taşınmasıyla bir veya birden fazla bölgede aktivite meydana gelebilir.

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.<sup>48</sup>

### 2.3. $\alpha$ , $\beta$ -Doymamış Ketonlar

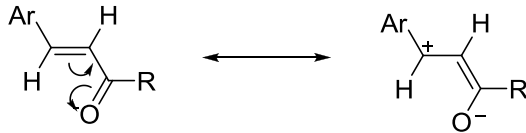
$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların (Şekil 2.8), amin ve hidroksil gruplarına karşı ilgisi yok ya da yok denecek kadar az, tiyollere karşı ilgisi ise çok fazladır.<sup>45</sup> Bu özellik nükleik asitlerle etkileşmeyi engeller. Bundan dolayı bu bileşiklerde alkilleyici bileşiklerin kullanımında gözlenen kanserojenik ve mutajenik yan etkiler gözlenmez. Tiyollere karşı  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların tercihli afinitesi daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir. Hücre bölünmesinden hemen önce artmış glutatyon seviyeleri daha önce rapor edilmiştir.<sup>45</sup> Bu yüzden normal dokulardan ziyade tümörlü dokulara karşı başarılı bir seçici sitotoksosite  $\alpha,\beta$ -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.<sup>45</sup>



Şekil 2.8.  $\alpha$ ,  $\beta$ -Doymamış ketonlar

## 2.4. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katımı

Michael katım tepkimesi aktif  $\alpha$ -hidrojeni taşıyan bir vericinin (örneğin RRCH-COR) bazik koşullarda konjuge bir sistemin parçasını oluşturan aktif karbon-karbon doymamışlığına (Şekil 2.9) katım yapması demektir.<sup>49</sup> Tepkimenin bu tanımı tiyol, amin ve hidroksil gibi elektron verici nükleofilik grupların  $\alpha,\beta$ -doymamış keton sistemi ile tepkimeye girebilme yeteneğine sahip olduğunu açıklar. Nükleofilik atak için karbon-karbon arasında  $\pi$  elektronlarının varlığı ve rezonans ya da indüktif etkilerle  $\beta$ -karbonunun elektron yoğunluğunu azaltan aktifleştirici grupların bulunması gerekir. Tepkimenin gerçekleşmesine katkıda bulunan rezonans yapılar aşağıda gösterilmiştir.



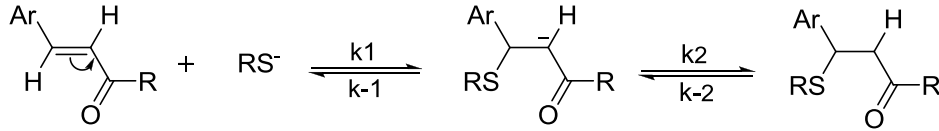
R=H, Alkil, Aril

**Şekil 2.9.** Michael katım tepkimesinde rezonans

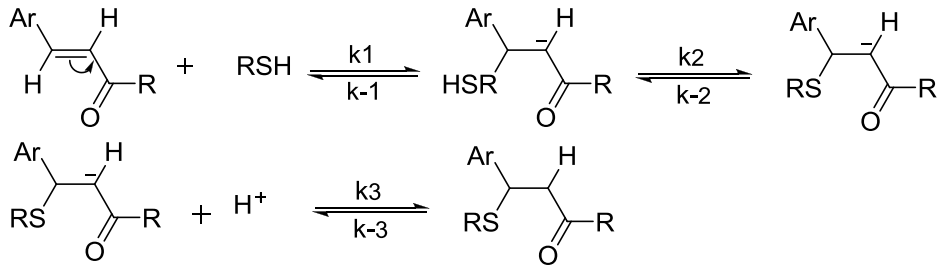
Ancak Michael tepkimesi sadece konjuge enonlarla sınırlı olmayan genel bir tepkime niteliğindedir. Zira konjuge aldehitler, esterler, nitriller, amitler ve nitrobileşikler de elektrofilik akseptör olarak davranarak Michael tipi reaksiyonda yer alabilirler. Michael katımı ile aynı koşullarda yürüyen tersinir bir tepkimenin varlığı da (Retro-Michael tepkimesi) bilinmektedir. Retro-Michael tepkimesi, Michael katım ürününün baz varlığında parçalanarak olefinleri oluşturmasıdır. Bazı durumlarda parçalanma bazik katalizör olmaksızın hafif ısıtılmakla da gerçekleşebilir.<sup>51, 52</sup> Michael reaksiyonunun en verimli uygulamaları dialkil malonat veya  $\beta$ -ketoesterlerden türeyen enolat anyonlarının, sterik olarak engellenmeyen  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlara katımıdır.

### 2.4.1. Michael Katım Tepkimesinin Mekanizması

Dissosiyе olmuş ( $RS^-$ ) ve dissosiyе olmamış ( $RSH$ ) tiyol nükleofilleri ile  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların verdikleri tepkime mekanizmaları Şekil 2.10 ve Şekil 2.11'de verilmiştir.



Şekil 2.10. Dissosiyе tiyollerin Michael katım mekanizması



Şekil 2.11. Nondissosiyе tiyollerin Michael katım mekanizması

Kinetik çalışmalarda ise şu noktalar vurgulanmaktadır:

1. En yavaş tepkime basamağı nükleofilin  $\beta$ -karbonuna atak yaptığı basamaktır.
2.  $\beta$ -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 etkiler.<sup>53</sup>

### 2.5. İlaç Tasarlama da Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi

Genel olarak, biyolojik aktivite ilaçların fizikokimyasal (yapısal, fiziksel ve kimyasal) özelliklerinin bir fonksiyonu şeklinde düşünülür. Bu nedenle bir ilaç molekülünde bu özelliklerin herhangi birinin değişmesi biyoaktivitede değişikliklere neden olur. Nicel yapı-etki ilişkisi (QSAR) bileşiklerin biyolojik aktivitelerini nicel ve sistematik kalıplar içerisinde kendi fizikokimyasal özellikleri ile açıklar.<sup>54</sup>

İlaç tasarlamada QSAR kapsamında muhtelif korelasyon ve yaklaşımlardan yararlanılır. Bunlar:

Hammett korelasyonu

Log P

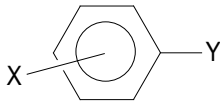
Hansch analizi

Topliss yaklaşımı

### 2.5.1. Hammett Korelasyonu

Bu korelasyon homolog bir seride aromatik halka üzerindeki bir sübstitüentin elektronik yapısı (elektron verme ya da elektron çekme özellikleri) ile kimyasal tepkinliği arasındaki kantitatif ilişkiyi açıklar.<sup>55</sup>

Hammett değişmezi ( $\sigma$ ) bir aromatik halkanın meta ve para konumlarındaki sübstitüentlerinin indüktif ve rezonans etkilerinin toplamı olan elektronik etkisinin kantitatif ifadesidir.  $\sigma$  elektron veren gruplar için (-), elektron çeken gruplar için (+) işaretini alır. Pek çok sübstitüentin Hammett değişmezleri çeşitli çalışmalarla deneysel olarak belirlenmiştir.<sup>56, 57</sup> Yeterli sayıda sentez yapıldıktan sonra bulunan değerlerin standart sapmaları ve hata oranları saptanır. Böylece istenildiği zaman artık başka sentez yapmadan belirli molekül etkisini yönlendirecek ya da nicel olarak değiştirecek gruplar için bilgi edinilmiş olur. Bu tür incelemelerde fizikokimyasal parametreler kullanılır. Aşağıdaki formülde görülen genel yapıda Y yan zincirinin etkinliği ile X sübstitüentinin özelliği ve yeri arasında bir ilişki vardır.



Bu ilişki aşağıdaki denklemlerle verilir:

$$\log \frac{K^X}{K^H} = \rho \sigma$$



Bu denklemde  $K^H$  nonsübstitüe bileşiğin reaksiyonları için denge değişmezdir.  $K^X$  sübstitüe olmuş bileşiğin reaksiyonları için denge değişmezdir.  $\sigma$ , yalnız X sübstitüentinin özelliğine ve yerine bağlı bir değişmezdir.

Eğer yukarıdaki denklem açılarak yeniden yazılırsa;

$$\log K^X - \log K^H = P\sigma$$

$$\log K^X = P\sigma + \log K^H$$

eşitliği bulunur. Buradan çıkan sonuç şudur: Sübstitüe olmuş bileşiğin etkinliği ( $\log K^X$  olarak verilen değer) doğrusal olarak  $\sigma$  ile ilişkilidir. P ise sübstitüentin etkisini simgeler.

### 2.5.2. Hansch Analizi

İlk kez 1964 yılında Hansch korelasyonu in-vivo biyolojik sistemlere uygulandı.<sup>58</sup> Hansch kavramına göre ilaç etkisi iki etkene bağlıdır. Biyolojik bakımdan aktif bileşiklerin uygulandığı yerden etkili oldukları yere taşınımı bileşiğin dağılım (partisyon) katsayısı ile ilgilidir. Etkili oldukları yöredeki ilaç ve reseptör etkileşmesi molekülde bulunan aktif işlevsel grupların tepkinliklerine bağlıdır. Hansch modeline göre; bileşiklerin hidrofobik, elektronik ve sterik özellikleri kantitatif biyolojik yanıtı belirler.

Herhangi bir bileşiğin X sübstitüentinin çözünürlük üzerine etkisini araştırmak için;

$$\pi = \log \frac{P_X}{P_H}$$

eşitliğinden yararlanır. Bu eşitlikte  $P_H$  nonsübstitüe bileşiğin,  $P_X$  sübstitüe bileşiğin partisyon katsayısını,  $\pi$  ise Hansch hidrofobik sübstitüent değişmezini gösterir.  $\pi$  değerini pozitif bulunması incelenen X sübstitüentinin molekülün yağdaki çözünürlüğünü ana bileşiğin yağdaki çözünürlüğüne göre arttırdığını gösterir.  $\pi$

değerinin negatif bulunması ise bunun aksini ifade eder. Hansch hidrofobik süstitüent değişiminde gözlenen farklılıkların  $\sigma$  ile ifade edilen elektronik etkileşmeden kaynaklandığı kanıtlanmıştır.<sup>59</sup> Optimum log P'li bir bileşik, bu değerden daha büyük ya da daha küçük log P'ye sahip bileşiklerden daha yüksek konsantrasyonda etki yöresine ulaşır. Bileşiklerin hem  $\pi$  değeri hem de log P değeri ile biyolojik aktivite arasında bir korelasyon kurulabildiği için  $\pi$  değerinin literatür bilgileri arasında bulunmadığı durumlarda log P değeri ve bundan yararlanarak  $\pi$  değeri deneysel olarak saptanabilir.

### 2.5.2.1. Dağılım (Partisyon) Katsayısı (P)

Kimyasal yapı ve antikanser aktivite arasında ilişki kurmayı sağlayan birincil bir parametrenin seçilmesi ilaç tasarımı kolaylaştırır. Biyolojik açıdan aktif birçok bileşiğin en önemli özelliğinin onların lipofilisite olduğu anlaşılmıştır. Lipofilisite oktanol-su çözücü sistemi kullanılarak partisyon katsayısı yoluyla ölçülebilir. Bir ilacın partisyon katsayısı, o ilacın organik çözücüsü karışımında çalkalandığında organik çözücü ile suya geçen niceliğinin oranıdır. Partisyon katsayısı bir ilacın yapı-etki ilişkisinin araştırılmasında, kemoterapötik bileşiklerin geliştirilmesinde önemlidir.<sup>60</sup>

Yapı-etki ilişkisi çalışmalarında sık kullanılan parametreler karşılaştırıldığında, regresyon analizi, biyoaktivite korelasyonunda log P (oktanol-su) değerinin çalışılan diğer parametrelerden daha önemli olduğunu göstermiştir.  $\alpha,\beta$ -Doymamış ketonlarla yapılan bir araştırmada hidrofilik/hidrofobik özelliklerin biyoaktiviteyi değiştirdiği belirlenmiş<sup>61</sup> ve seskiterpen laktonlarda lipofilite ve sitotoksisite arasında kesin bir ilişki olduğu saptanmıştır.<sup>62</sup> Yine lipoidal pentadesil yan zinciri taşıyan ve taşımayan kinon türevlerinde lipofilliğin biyoaktiviteyi olumsuz yönde etkilediği görülmüştür.<sup>63</sup> Kanserli hücre DNA'sına özgü bir ilacın, hücre membranlarından geçiş şeklinden bağımsız olarak, sulu ekstrasellüler hücre çevresi ile uyumlu olması gerekir. Ayrıca oldukça

hidrofobik membran tabakalarından geçebilmek için ilaç aynı zamanda bu hidrofobik çevre ile de bir dereceye kadar uyumlu olmalıdır. Antineoplastik aktivite ile lipofilisite arasındaki ilişkinin lineer olduğunu gösteren logaritmik bir grafik saptanmıştır.<sup>64</sup>

### 2.5.2.2. İyonlaşma Sabiti (Ka)

Her asit yada baz sulu ortama alındığında, yapısına bağlı olarak değişik iyonizasyon oranlarında dissosiyasyon olur. Asitlerin yada bazların dissosiyasyonunu etkileyen nedenlerden birisi de içinde buldukları ortamın pH'sıdır. 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 yada zayıf baz niteliğinde olan ilaçların lipoid nitelikteki zarlardan geçişleri ne kadar iyonize olduklarına bağlıdır. Bu nedenle; bu tip ilaçların yüzde kaçının iyonize yüzde kaçının noniyonize olduğunun hesaplanması gerekir. 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 dört 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 yada noniyonize kısımlarının konsantrasyonunu hesaplamak mümkündür.

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

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

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

$$\% \text{ İyonize Şekil} = \frac{i \times 100}{i + N}$$

i: İlacın iyonik şeklinin konsantrasyonu

N: Noniyonik (moleküler) şeklinin konsantrasyonu

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'lar da 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.

## 2.6. 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.<sup>65</sup> 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 bileşiklerle karşılaştırılır. Eğer 4-kloro türevi daha aktifse bir sonraki basamakta 3,4-dikloro türevi sentezlenir. Böylece hem  $\pi$ , hem de  $\sigma$  değerleri önemli ölçüde arttırılmış olur. Eğer 4-kloro türevi ana bileşikten daha az aktifse  $\pi$  ve  $\sigma$  değerlerini ana bileşiğe göre daha düşürmek amacıyla 4-metoksi türevi hazırlanır. 4-kloro türevi ana bileşiklerle eşit aktiviteye sahipse 4-metil analogu hazırlanır.  $\pi$  ve  $\sigma$  değerleri göz önünde tutularak bu sistematik basamaklandırma işlemine optimum aktivite elde edilinceye kadar devam edilir.

## **2.7. Biyoaktivite Testleri**

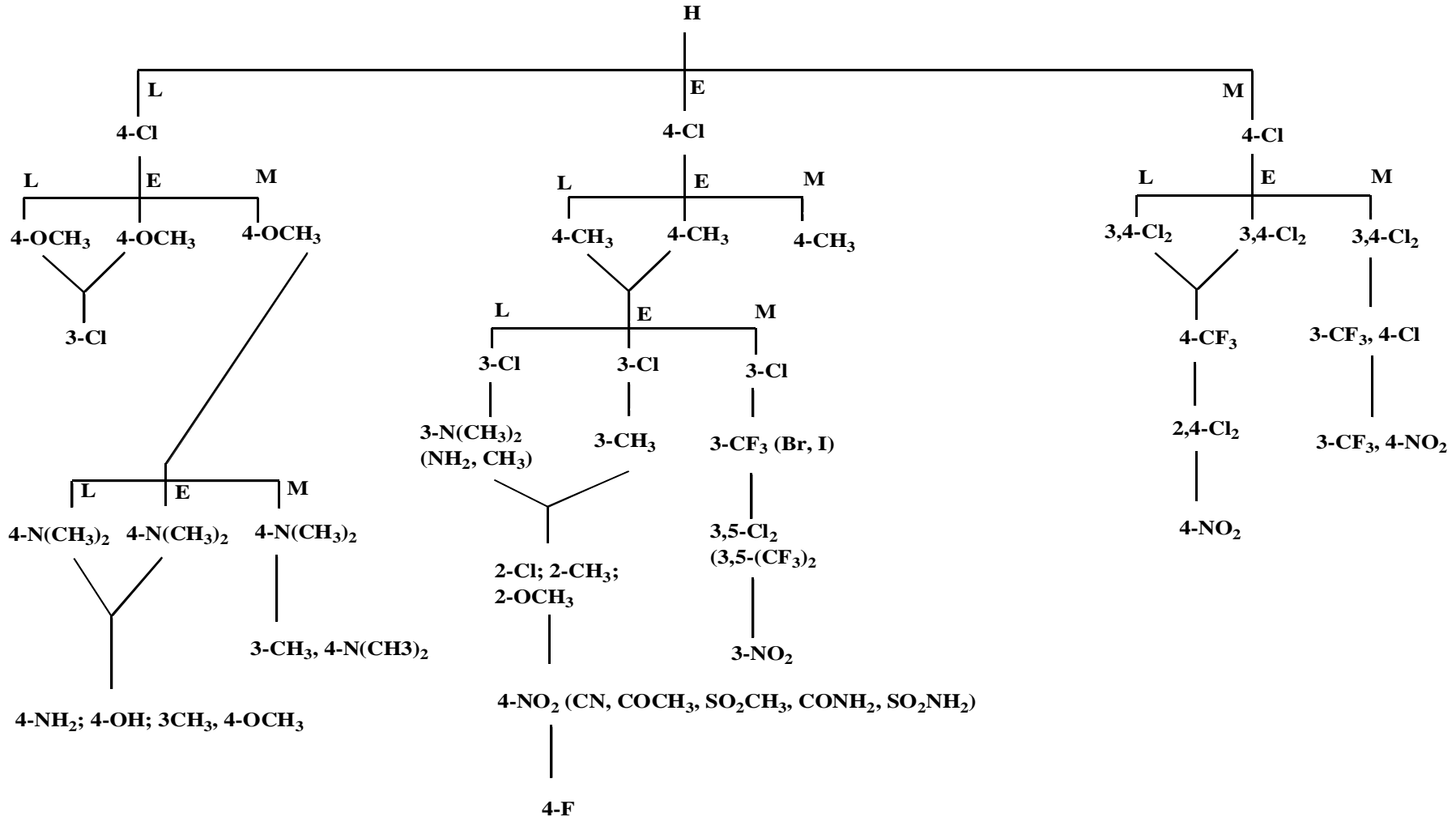
### **2.7.1. Sitotoksik Aktivitenin Tayini Amacıyla Kullanılan Biyoaktivite Testleri**

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.<sup>66</sup> 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.<sup>67</sup>

### **2.7.2. PARP1 Yapışma Testi**

Birçok sitotoksin biyoaktivitesini apoptosisi indükleyerek<sup>5, 16</sup> gösterir. Fakat DNA çift sarmalının tekinin kırılması poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP1) tarafından tamir edilebilir.<sup>50</sup> Bu yüzden PARP1 yapışmasının normal hücrelerden ziyade kanserli hücrelerde daha büyük oranda olması kanser tedavisinde faydalı bir yaklaşım olabilir.

PARP1 yapışma normal hücrelerde görülmez iken kanserli hücrede görülmesi bileşiklerin tümör seçiciliğine katkı sağlayan olası faktör olarak değerlendirilebilir.



Şekil 2.12. İlaç tasarlamada Topliss yaklaşımını açıklayan karar ağacı

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Kimyasallar ve Yöntemler

##### 3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

Stabilite çalışmasında 1-Aril-3-morfolino / piperidino-1-propanon hidroklorür, 2-merkaptoetanol (Fluka, Steinheim, Switzerland), sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (Merck, Hohenbrunn, Germany), disodyum hidrojen fosfat (Fluka, Steinheim, Switzerland), saf su (GFL 2004) 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 HF<sub>254</sub> (Merck Art 5715) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Kromatografi işlemi oda sıcaklığında yapıldı ve sürüklenme işlemi kromatografi tankının çözücü buharlarıyla doyurulmasından sonra gerçekleştirildi. Sürüklenme 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 de kullanılmıştır. Sütun kromatografisi yönteminde adsorban olarak silikajel 60 (0.063- 0.2 mm) (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır.

###### Spektral Analizler

Bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR ve <sup>13</sup>C-NMR spektrumları 400 (100) MHz Varian Spectrometer (Danbury, USA) ile CDCl<sub>3</sub> (Sigma-Aldrich, ST Louis, USA)’da çözülerek alınmıştır.

## Kütle Spektroskopisi

Bileşiklerin kütle spektrumları negatif (-) veya pozitif (+) moda elektron spray iyonizasyon MS (ESI-MS) VG Waters Micromass ZQ (USA) spektrometresinde alınmıştır.

## Erime Noktası Tayinleri

Bileşiklerin erime dereceleri Electrothermal 9100 marka (IA9100, U.K) erime derecesi tayini cihazı kullanılarak tespit edildi.

## pH Metre

Fosfat tamponunun pH' nın ayarlanmasında Crison marka pH metre kullanılmıştır.

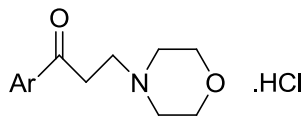
## Termostatlı Çalkalayıcı Su Banyosu

1-Aril-3-morfolino / piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip bileşiklerin stabilite çalışması yapılırken Memmert marka su banyosu kullanılmıştır.

## 3.2. Sentez Yöntemleri ve Spektrumlar

### 3.2.1. 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (A1-A9) Kimyasal

#### Yapısına Sahip Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemi



Ar: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (A1), 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A2), 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A3), 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A4), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A5), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A6), C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>S(2-il) (A7), C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O(2-il) (A8), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (A9)

**Şekil 3.1.** 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip bileşiklerin genel formülleri

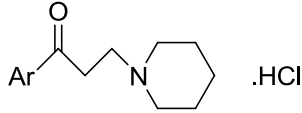
Uygun bir keton, paraformaldehit ve morfolin hidroklorür 1:1.2:1 oranında alınarak asetik asit (10 ml) içerisinde 70 Watt'da, 120 °C'de mikrodalga fırında (CEM 3100, Smith Farm Rd. Matthews, N.C.28105 USA) geri çeviren soğutucu altında 5-240 dk ısıtılmıştır. Reaksiyonlar ince tabaka kromatografisi (İTK) ile CHCl<sub>3</sub>:MeOH (8:2 veya 9:1) çözücü sistemi kullanılarak izlenmiştir. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç



altında uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen çökelek MeOH, CHCl<sub>3</sub>/MeOH veya MeOH/Et<sub>2</sub>O ile kristallendirilmiştir. Kristallendirme sonrasında oluşan kristaller süzülerek ayrılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.<sup>68</sup>

### 3.2.2. 1-Aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (B1-B9) Kimyasal

#### Yapısına Sahip Bileşiklerin Genel Sentez Yöntemi



Ar: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (**B1**), 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B2**), 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B3**), 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B4**), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B5**), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B6**), C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>S(2-il) (**B7**), C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O(2-il) (**B8**), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (**B9**)

**Şekil 3.2.** 1-Aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapısına sahip bileşiklerin genel formülleri

Uygun bir keton, paraformaldehit ve piperidin hidroklorür 1:1.2:1 oranında alınarak asetik asit (10 ml) içerisinde 70 Watt'da, 120 °C'de mikrodalga fırında (CEM 3100, Smith Farm Rd. Matthews, N.C.28105 USA) geri çeviren soğutucu altında 20-65 dk ısıtılmıştır. Reaksiyonlar İTK ile CHCl<sub>3</sub>:MeOH (8:2 veya 9:1) çözücü sistemi kullanılarak izlenmiştir. Reaksiyon çözücüsü alçak basınç altında uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen çökelek MeOH, CHCl<sub>3</sub>/MeOH veya MeOH/Et<sub>2</sub>O ile kristallendirilmiştir. Kristallendirme sonrasında oluşan kristaller süzülerek ayrılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.<sup>69</sup>

#### Fosfat Tampon Çözeltisi<sup>70</sup>

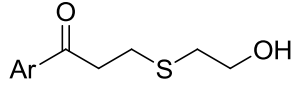
A: Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O) 15.9 g alınarak distile su ile 500 ml' ye tamamlanmıştır.

B: Disodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 35.85 g alınarak distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

19 ml A çözeltisinden, 81 ml B çözeltisinden alınıp distile su ile 200 ml' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti kalibrasyonu yapılan pH metre ile 7.4'e ayarlanmıştır.

### 3.2.3. 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon Kimyasal Yapısına Sahip

#### Bileşiklerin Sentezi



Ar: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (EU1), 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU2), 4-CH<sub>3</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU3), 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU4), 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU5), 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU6), C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>S(2-il) (EU7), C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>O(2-il) (EU8), 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (EU9)

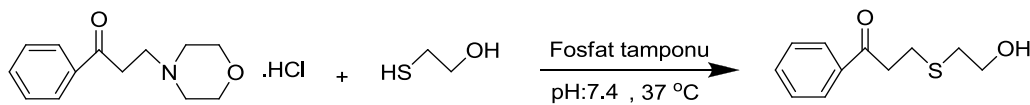
**Şekil 3.3.** 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon kimyasal yapısına sahip bileşiklerin genel formülleri

EU1-EU9 bileşiklerinin A1-A9 ve B1-B9 bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3’de sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve TOF-MS spektrumları deneysel bölümde detaylı bir biçimde verilmiş, bu spektral analizlerin toplu değerlendirmeleri Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6’da sunulmuştur. Biyoaktivite bulguları ise Tablo 4.7’de sunulmuştur.

#### 3.2.3.1. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-fenilpropanon (EU1) Bileşiğinin A1

##### Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.15 g, 1.95 mmol), 1-fenil-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.95 mmol, A1) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C’de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 9 saat sonunda reaksiyon ortamındaki A1 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-fenilpropanon (EU1) bileşiği % 88.01 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.

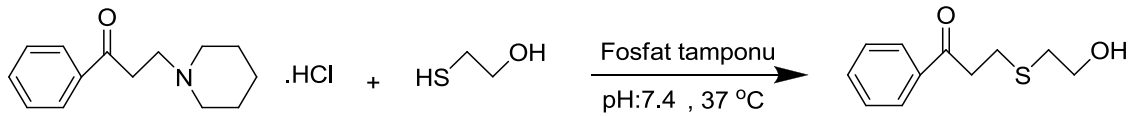


**Şekil 3.4.** EU1 bileşiğinin A1 bileşiğinden hareketle sentezi

### 3.2.3.2. 3-(2-Hidroksietiltiy)u-1-fenilpropanon (EU1) BileŒiđinin B1

#### BileŒiđinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.031 g, 0.39 mmol), 1-fenil-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.39 mmol, B1) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüŒü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 44 saat sonunda reaksiyon ortamındaki B1 bileŒiđinin tükendiği gözlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaŒtırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) özücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaŒtırıldı. 3-(2-hidroksietiltiy)u-1-fenilpropanon (EU1) bileŒiđi % 82.38 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.



Œekil 3.5. EU1 bileŒiđinin B1 bileŒiđinden hareketle sentezi

#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Œekil 3.6)

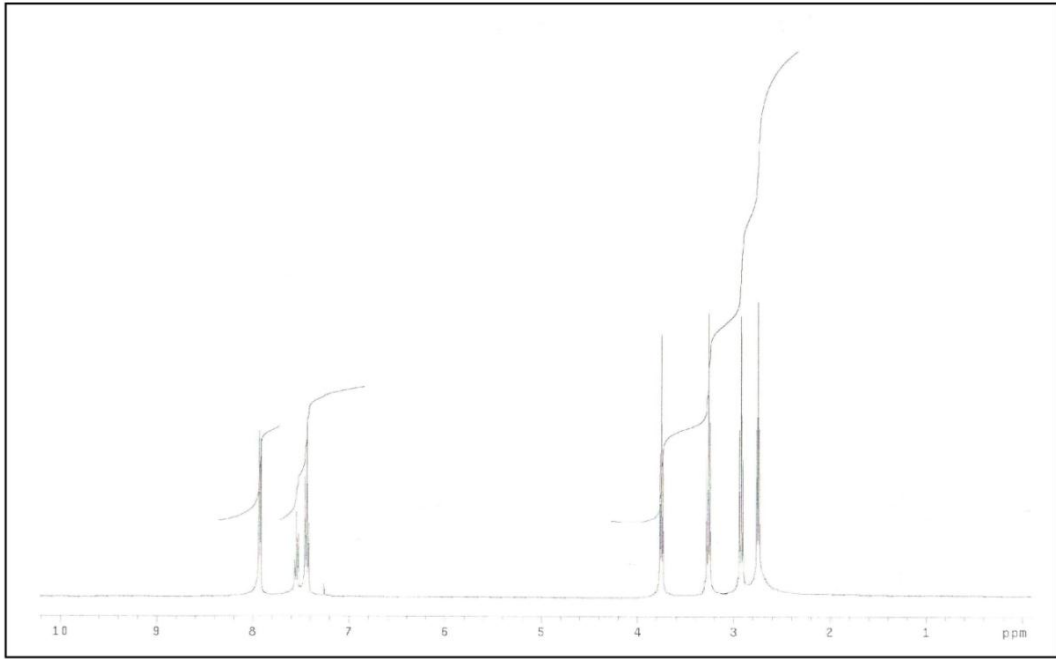
δ 7.86-7.84 (A, ABX sistem, d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.49-7.45 (X, ABX sistem, dd,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.38-7.33 (B, ABX sistem, dd,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.19 (m, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.68 (m, 2H)

#### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Œekil 3.7)

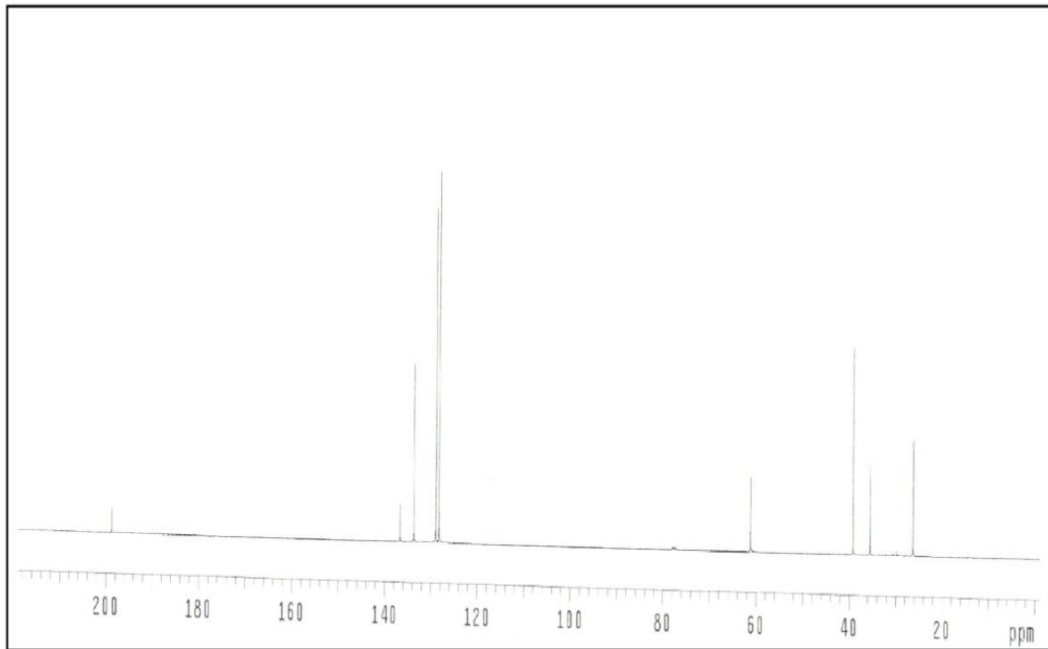
δ 26.2, 35.5, 39.1, 61.1, 128.2, 128.8, 133.6, 136.6, 198.8

#### Kütle spektrumu (Œekil 3.8)

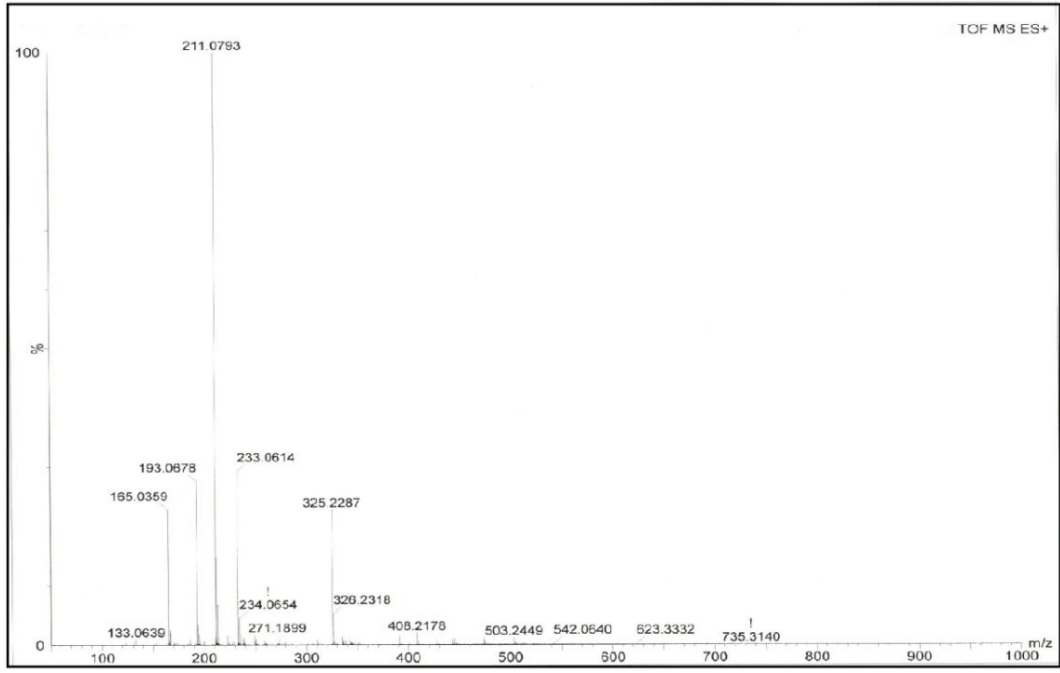
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) m/z: M<sup>+</sup> +1 (211.0793)



Şekil 3.6. EU1 bileşiğinin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Şekil 3.7. EU1 bileşiğinin  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu

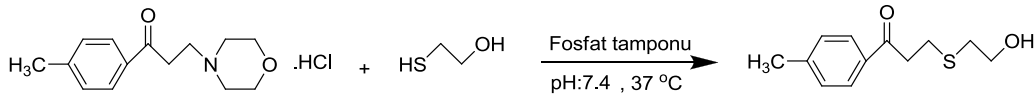


Şekil 3.8. EU1 bileşiminin kütle spektrumu

### 3.2.3.3. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metilfenil)propanon (EU2) Bileşiğinin A2

#### Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.14 g, 1.85 mmol), 1-(4-metilfenil)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.85 mmol, A2) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 23 saat sonundaki İTK verileri ile 50 saat 30 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(4-metilfenil)propanon (EU2) bileşiği % 77.83 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 34-36 °C'dir.



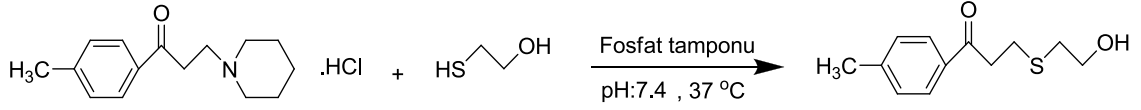
**Şekil 3.9.** EU2 bileşiğinin A2 bileşiğinden hareketle sentezi

### 3.2.3.4. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-metilfenil)propanon (EU2) Bileşiğinin B2

#### Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.029 g, 0.37 mmol), 1-(4-metilfenil)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.37 mmol, B2) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 28 saat sonundaki İTK verileri ile 96 saat 25 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-

1-(4-metilfenil)propanon (EU2) bileşigi % 70.49 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşigin erime derecesi 34-36 °C'dir.



**Şekil 3.10.** EU2 bileşiginin B2 bileşigidenden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.11)**

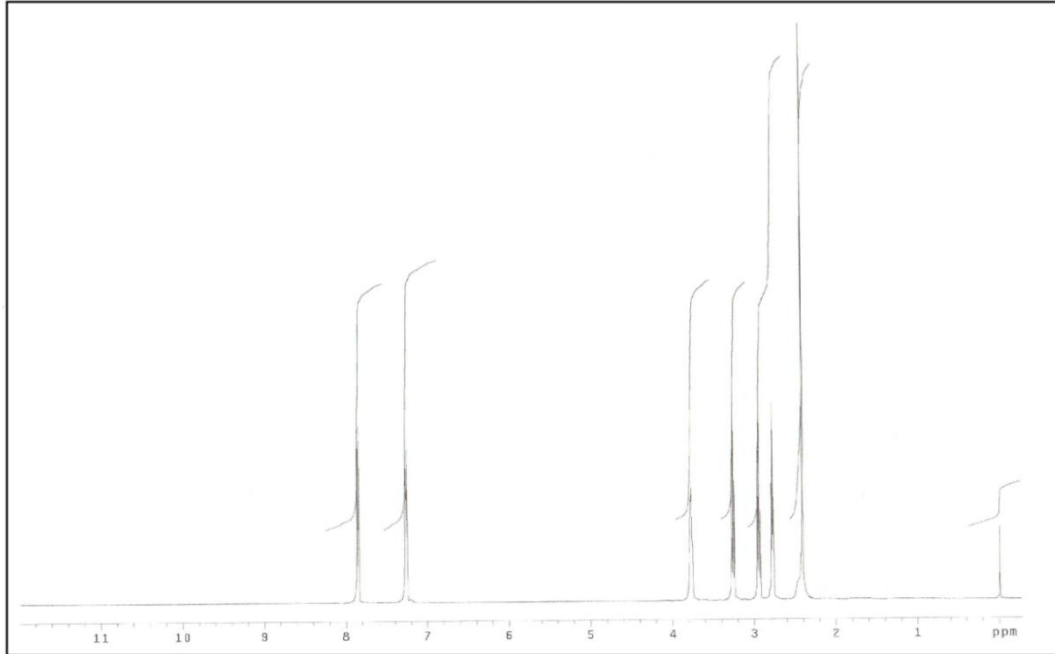
δ 7.79 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.73 (bs, 2H), 3.20 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.71 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.12)**

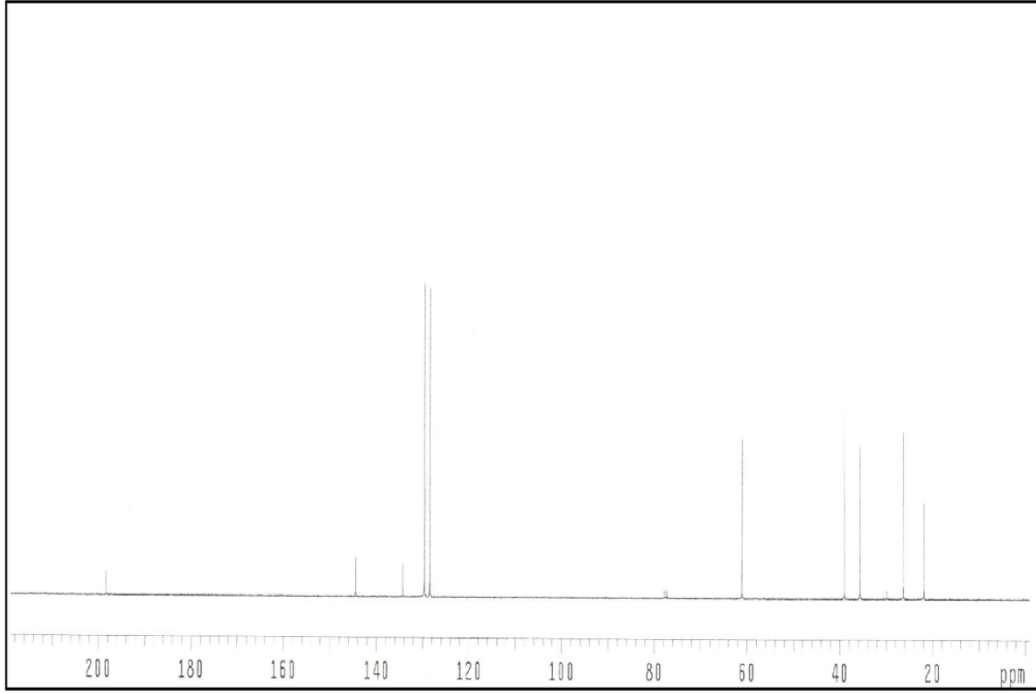
δ 21.8, 26.2, 35.6, 38.9, 61.0, 128.3, 129.5, 134.1, 144.4, 198.3

**Kütle spektrumu (Şekil 3.13)**

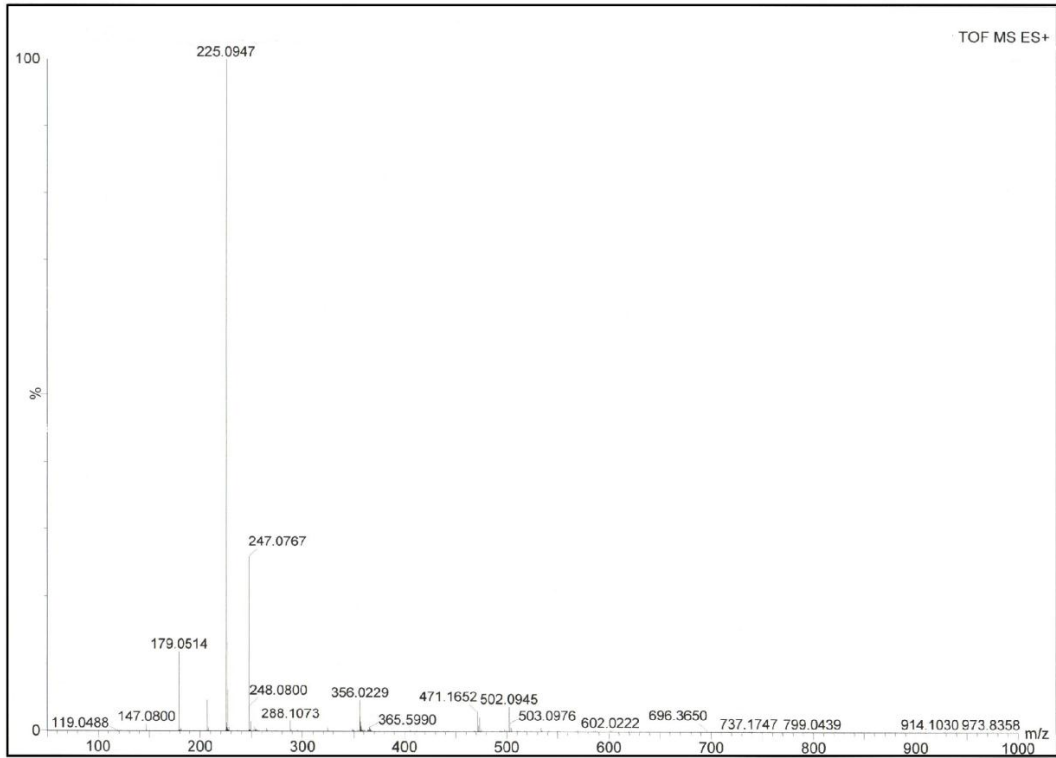
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) *m/z*: M<sup>+</sup> +1 (225.0947)



**Şekil 3.11.** EU2 bileşiginin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.12. EU2 bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu



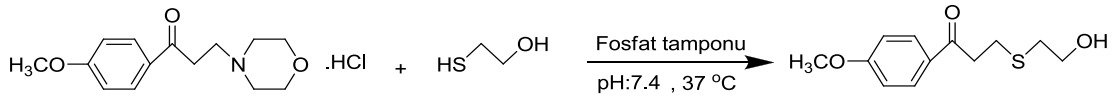
Şekil 3.13. EU2 bileşiğinin kütle spektrumu



### 3.2.3.5. 3-(2-Hidroksietiltiy)-1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) Bileşiminin

#### A3 Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.14 g, 1.75 mmol), 1-(4-metoksifenil)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.75 mmol, A3) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 20 saat sonundaki İTK verileri ile 50 saat 30 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiy)-1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) bileşiği % 89.04 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 32-34 °C'dir.



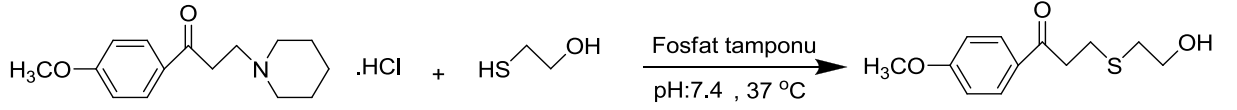
Şekil 3.14. EU3 bileşiminin A3 bileşiminden hareketle sentezi

### 3.2.3.6. 3-(2-Hidroksietiltiy)-1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) Bileşiminin

#### B3 Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.027 g, 0.35 mmol), 1-(4-metoksifenil)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.35 mmol, B3) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 35 saat sonundaki İTK verileri ile 96 saat 25 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiy)-

1-(4-metoksifenil)propanon (EU3) bileşiği % 71.75 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 32-34 °C'dir.



**Şekil 3.15.** EU3 bileşiğinin B3 bileşiğinden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.16)**

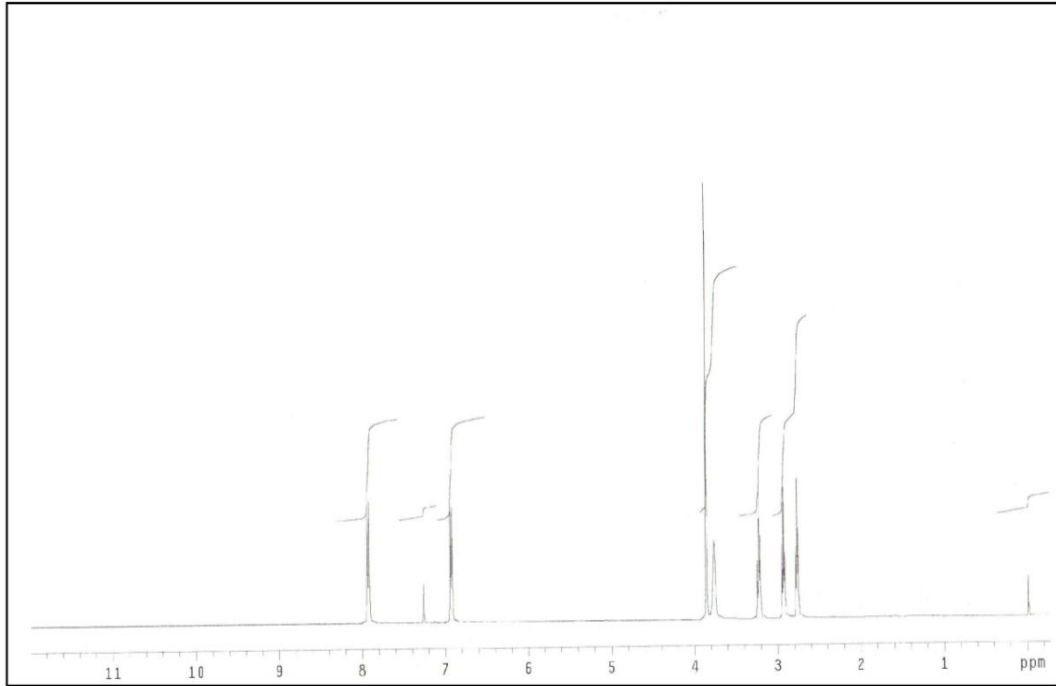
δ 7.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.65 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.07 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.77 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.62 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.17)**

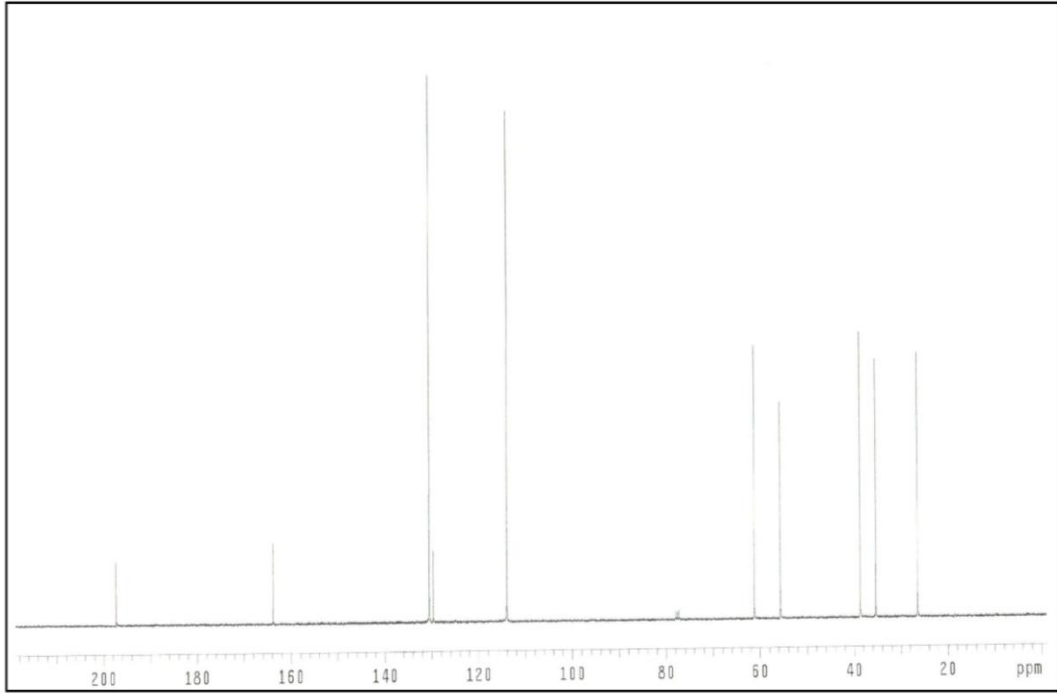
δ 26.4, 35.3, 38.7, 55.6, 61.2, 113.9, 129.6, 130.5, 163.7, 197.2

**Kütle spektrumu (Şekil 3.18)**

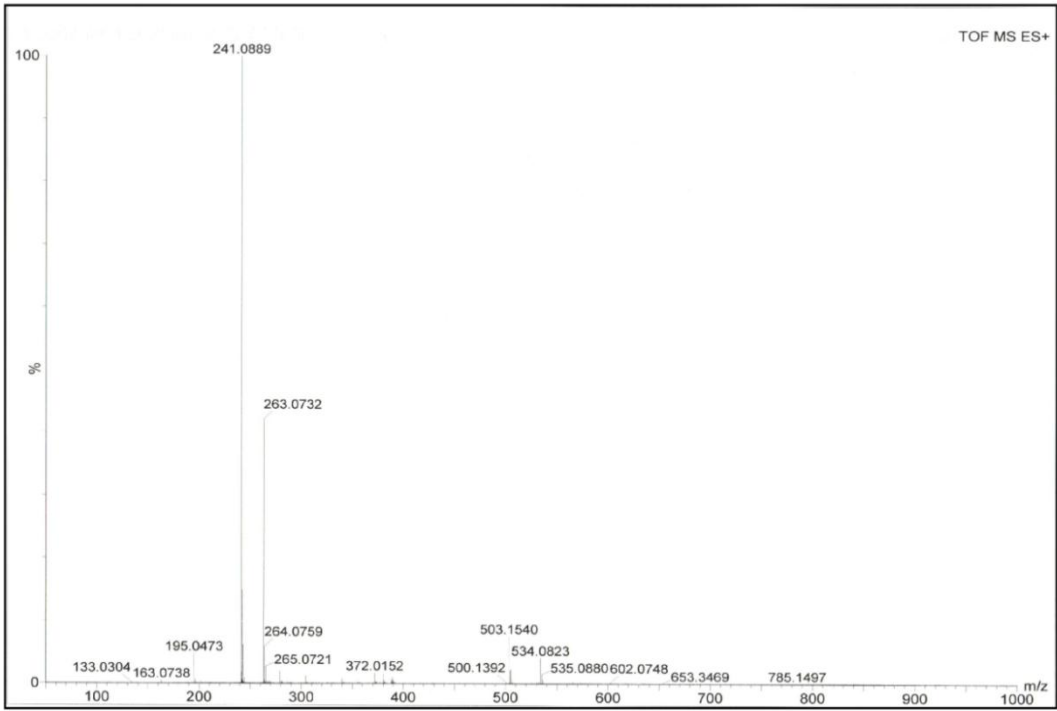
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) *m/z*: M<sup>+</sup> +1 (241.0889)



**Şekil 3.16.** EU3 bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.17. EU3 bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

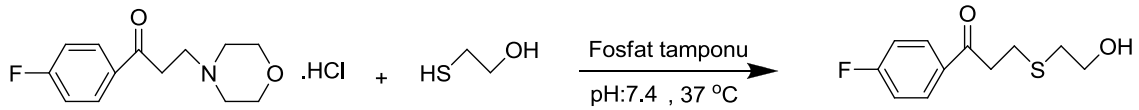


Şekil 3.18. EU3 bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3.7. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-florofenil)propanon (EU4) Bileşiğinin A4

#### Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.14 g, 1.83 mmol), 1-(4-florofenil)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.83 mmol, A4) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 20 saat 25 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki A4 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(4-florofenil)propanon (EU4) bileşiği % 76.94 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşik +4 °C'de katı, oda sıcaklığında viskoz maddedir.



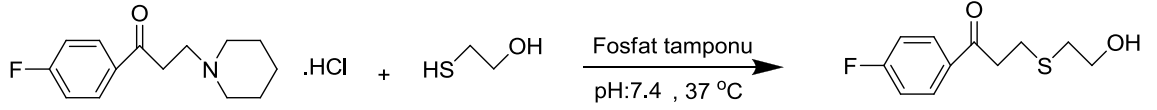
Şekil 3.19. EU4 bileşiğinin A4 bileşiğinden hareketle sentezi

### 3.2.3.8. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-florofenil)propanon (EU4) Bileşiğinin B4

#### Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.028 g, 0.36 mmol), 1-(4-florofenil)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.36 mmol, B4) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 45 saat 50 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki B4 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-

1-(4-florofenil)propanon (EU4) bileŒiđi % 89.39 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. BileŒik +4 °C'de katı, oda sıcaklığında viskoz maddedir.



**Œekil 3.20.** EU4 bileŒiđinin B4 bileŒiđinden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Œekil 3.21)**

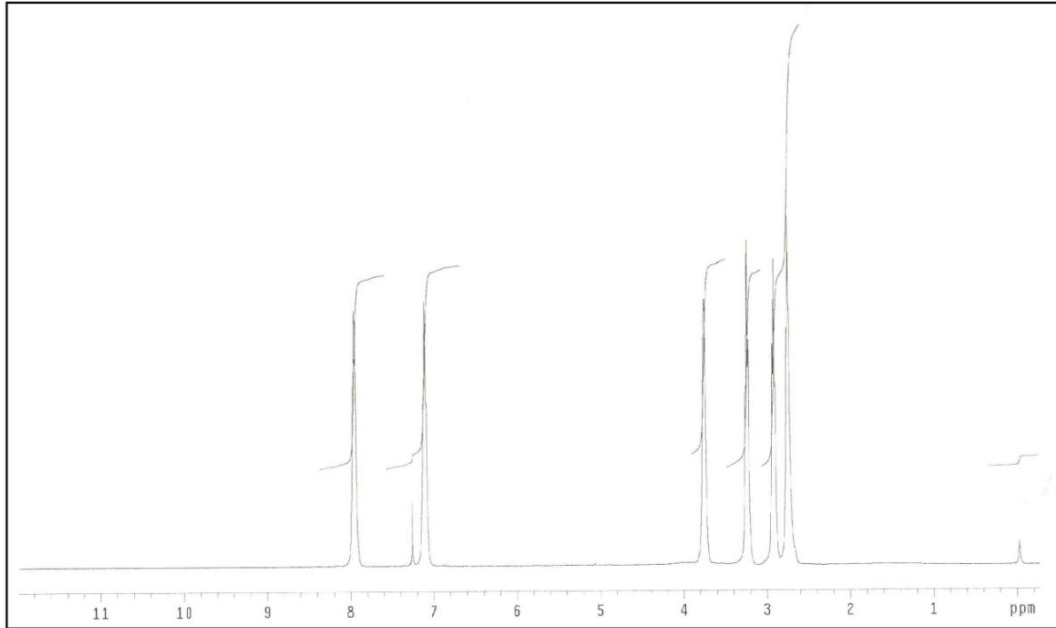
$\delta$  7.90 (dd,  $J = 5.8$  Hz,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.05 (t,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 3.71 (q,  $J = 6.4$  Hz, 2H),  
3.19 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.86 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.70 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Œekil 3.22)**

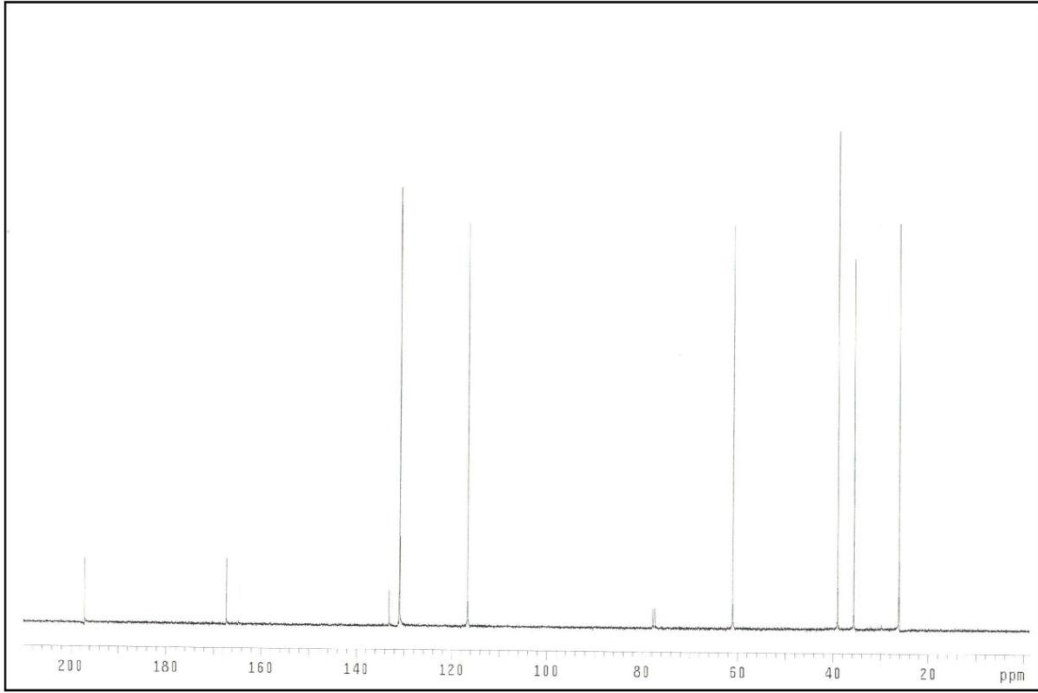
$\delta$  26.1, 35.6, 39.0, 61.0, 116.0, 130.9, 133.1, 167.2, 197.0

**K $\ddot{u}$ tle spektrumu (Œekil 3.23)**

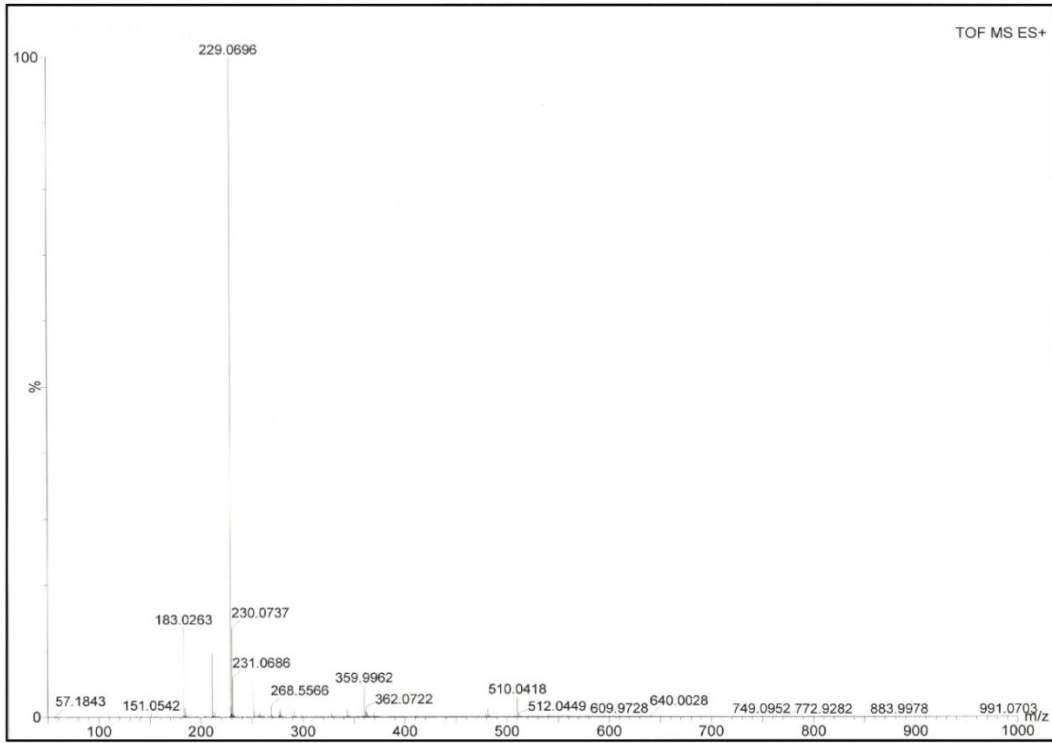
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH)  $m/z$ : M<sup>+</sup> +1 (229.0696)



**Œekil 3.21.** EU4 bileŒiđinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.22. EU4 bileşiğinin <sup>13</sup>C-NMR spektrumu

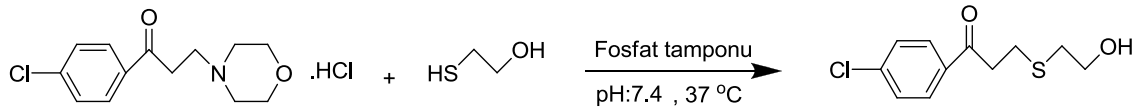


Şekil 3.23. EU4 bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3.9. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-klorofenil)propanon (EU5) Bileşiminin A5

#### Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.13 g, 1.72 mmol), 1-(4-klorofenil)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.72 mmol, A5) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 20 saat 25 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki A5 bileşiminin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(4-klorofenil)propanon (EU5) bileşimi % 63.08 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşimin erime derecesi 56-58 °C'dir.



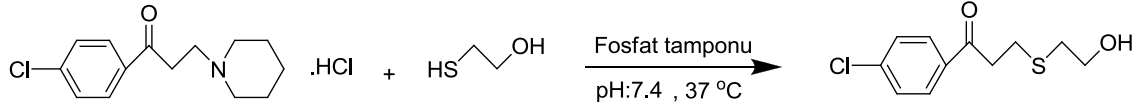
Şekil 3.24. EU5 bileşiminin A5 bileşiminden hareketle sentezi

### 3.2.3.10. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-klorofenil)propanon (EU5) Bileşiminin

#### B5 Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.027 g, 0.34 mmol), 1-(4-klorofenil)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.34 mmol, B5) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 25 saat sonundaki İTK verileri ile 77 saat 20 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-

1-(4-klorofenil)propanon (EU5) bileşiği % 81.78 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 56-58 °C'dir.



**Şekil 3.25.** EU5 bileşiğinin B5 bileşiğinden hareketle sentezi

### **<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.26)**

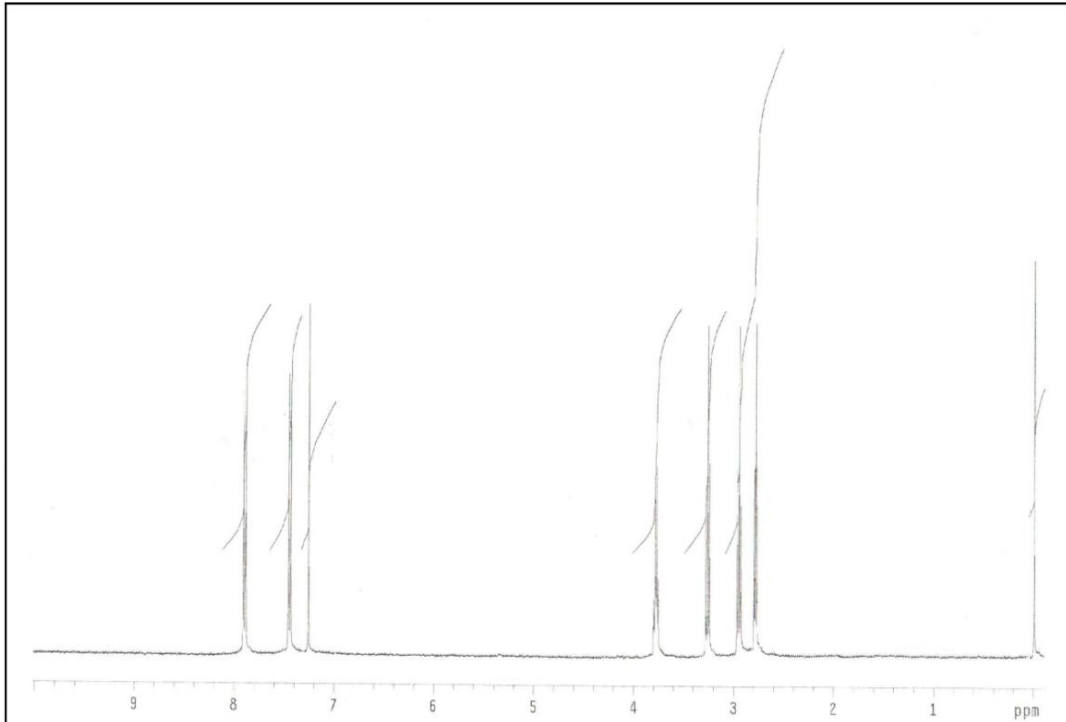
δ 7.84-7.81 (AA', AA'XX' sistem, d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.38-7.36 (XX', AA'XX' sistem, d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 3.73 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.21 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.72 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H)

### **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.27)**

δ 26.0, 35.7, 39.1, 61.0, 129.2, 129.6, 134.9, 140.0, 197.4

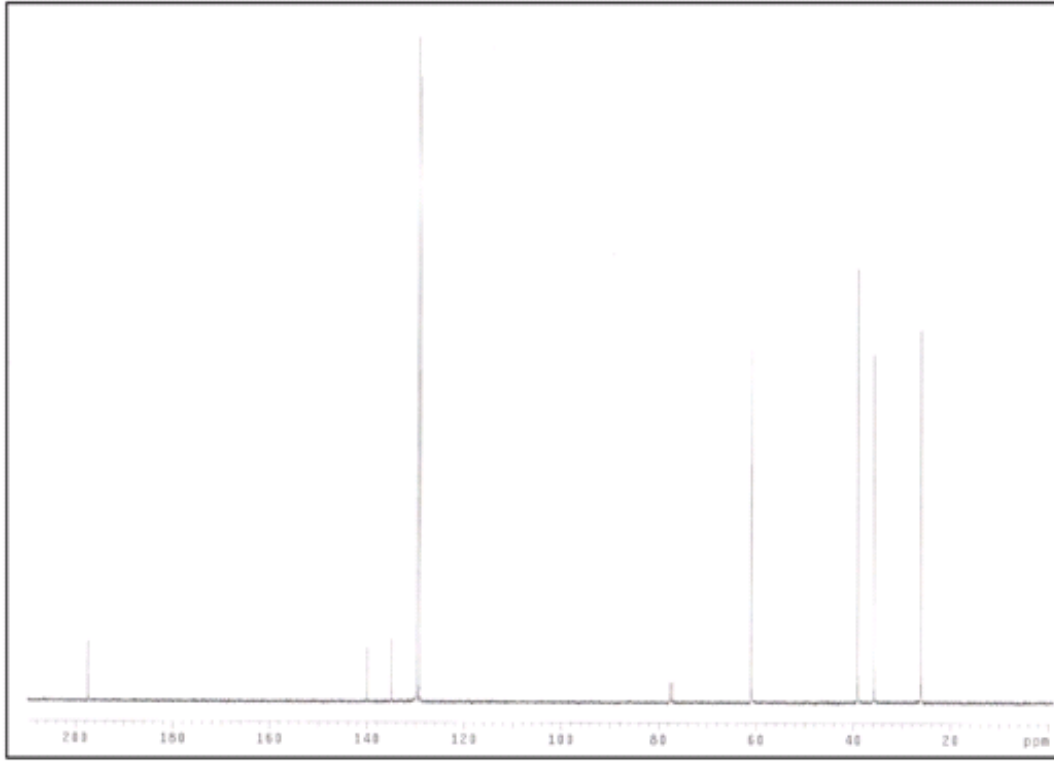
### **Kütle spektrumu (Şekil 3.28)**

TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) m/z: M<sup>+</sup> +1 (245.0403)

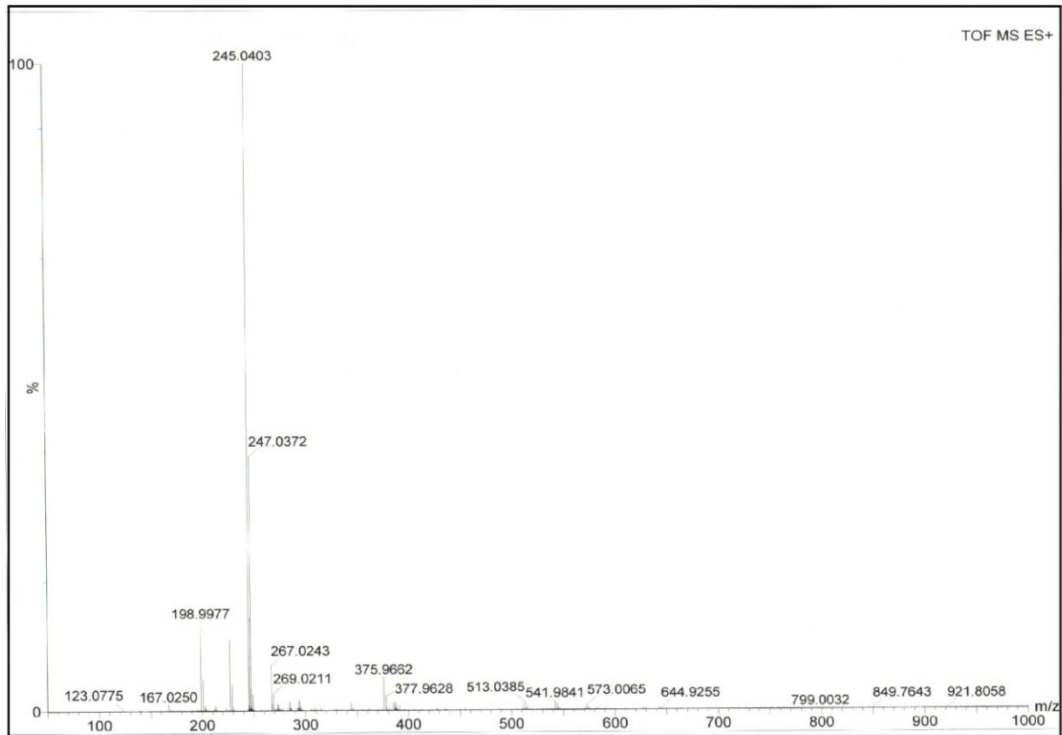


**Şekil 3.26.** EU5 bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu





Şekil 3.27. EU5 bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

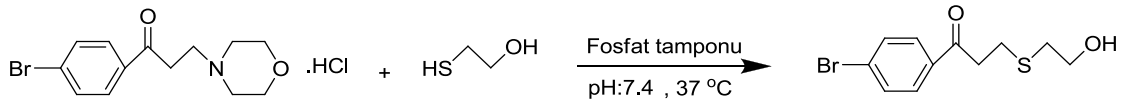


Şekil 3.28. EU5 bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3.11. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-bromofenil)propanon (EU6) Bileşiğinin

#### A6 Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.12 g, 1.49 mmol), 1-(4-bromofenil)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.49 mmol, A6) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 27 saat 20 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki A6 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(4-bromofenil)propanon (EU6) bileşiği % 75.39 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 57-59 °C'dir.



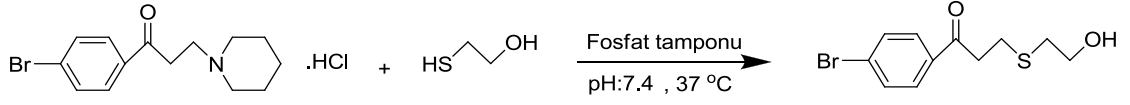
Şekil 3.29. EU6 bileşiğinin A6 bileşiğinden hareketle sentezi

### 3.2.3.12. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-bromofenil)propanon (EU6) Bileşiğinin

#### B6 Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.024 g, 0.30 mmol), 1-(4-bromofenil)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.30 mmol, B6) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 22 saat 5 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki B6 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-

1-(4-bromofenil)propanon (EU6) bileşiği % 82.39 verimle beyaz katı madde olarak elde edildi. Bileşiğin erime derecesi 57-59 °C'dir.



**Şekil 3.30.** EU6 bileşiğinin B6 bileşiğinden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.31)**

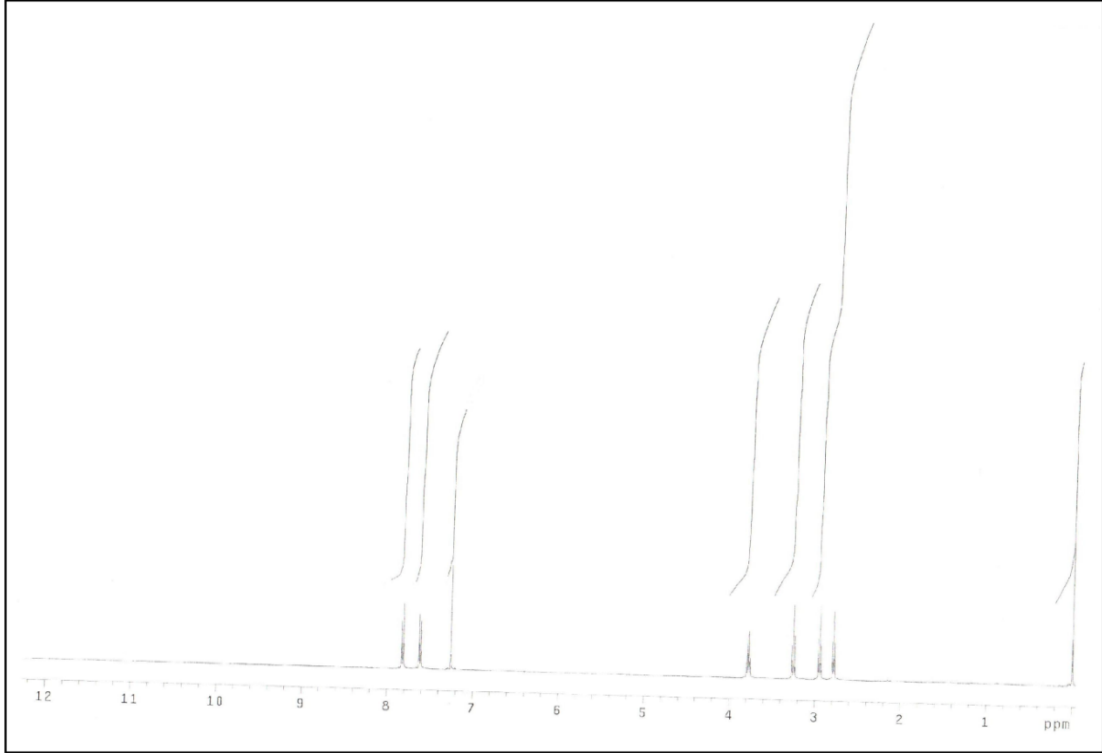
δ 7.83-7.81 (AA', AA'XX' sistem, d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.63-7.61 (XX', AA'XX' sistem, d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 3.78 (q,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 3.25 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.94 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 2.78 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.32)**

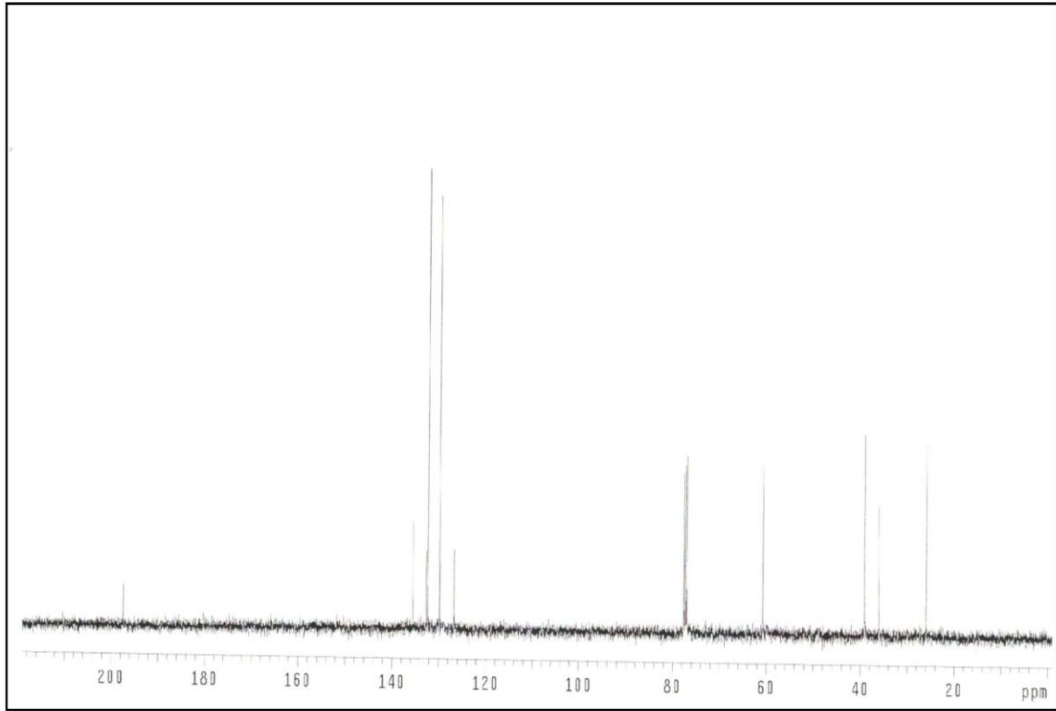
δ 25.9, 36.0, 39.0, 60.7, 126.6, 129.7, 131.7, 132.2, 197.47

**Kütle spektrumu (Şekil 3.33)**

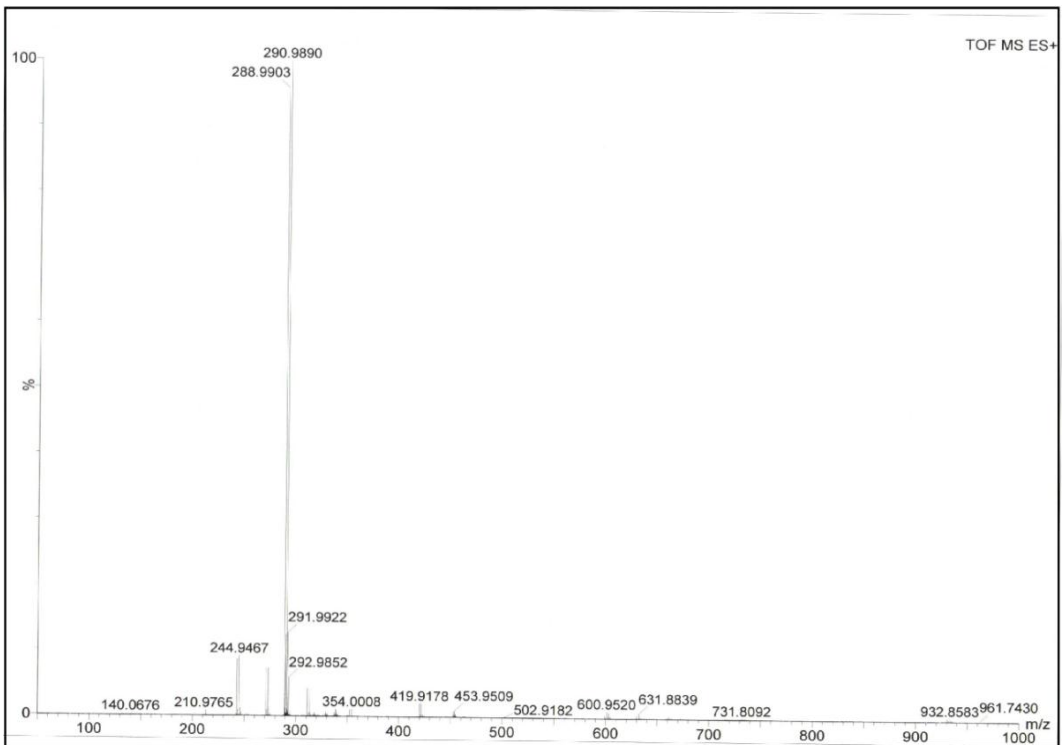
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH)  $m/z$ : M<sup>+</sup> +1 (288.9890)



**Şekil 3.31.** EU6 bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.32. EU6 bileşiminin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

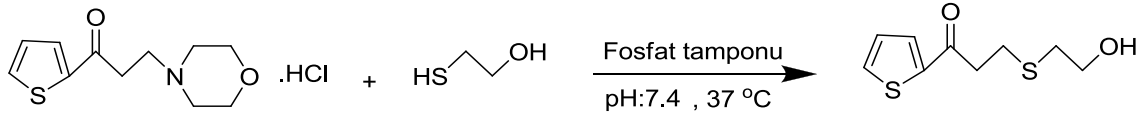


Şekil 3.33. EU6 bileşiminin kütle spektrumu

### 3.2.3.13. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) Bileşiminin A7

#### Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.15 g, 1.91 mmol), 3-morfolino-1-(tiyofen-2-il)-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.91 mmol, A7) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 9 saat sonunda reaksiyon ortamındaki A7 bileşiminin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) bileşimi % 80.59 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.

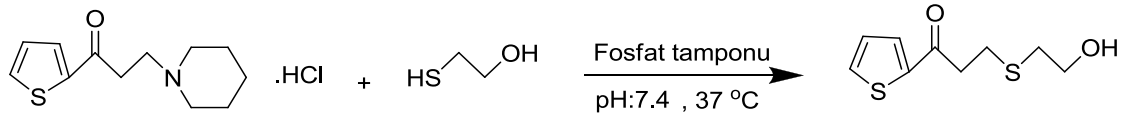


Şekil 3.34. EU7 bileşiminin A7 bileşiminden hareketle sentezi

### 3.2.3.14. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) Bileşiminin B7

#### Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.030 g, 0.38 mmol), 3-piperidino-1-(tiyofen-2-il)-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.38 mmol, B7) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 43 saat 15 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki B7 bileşiminin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(tiyofen-2-il)propanon (EU7) bileşimi % 88.81 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.



**Şekil 3.35.** EU7 bileşiğinin B7 bileşiğinden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.36)**

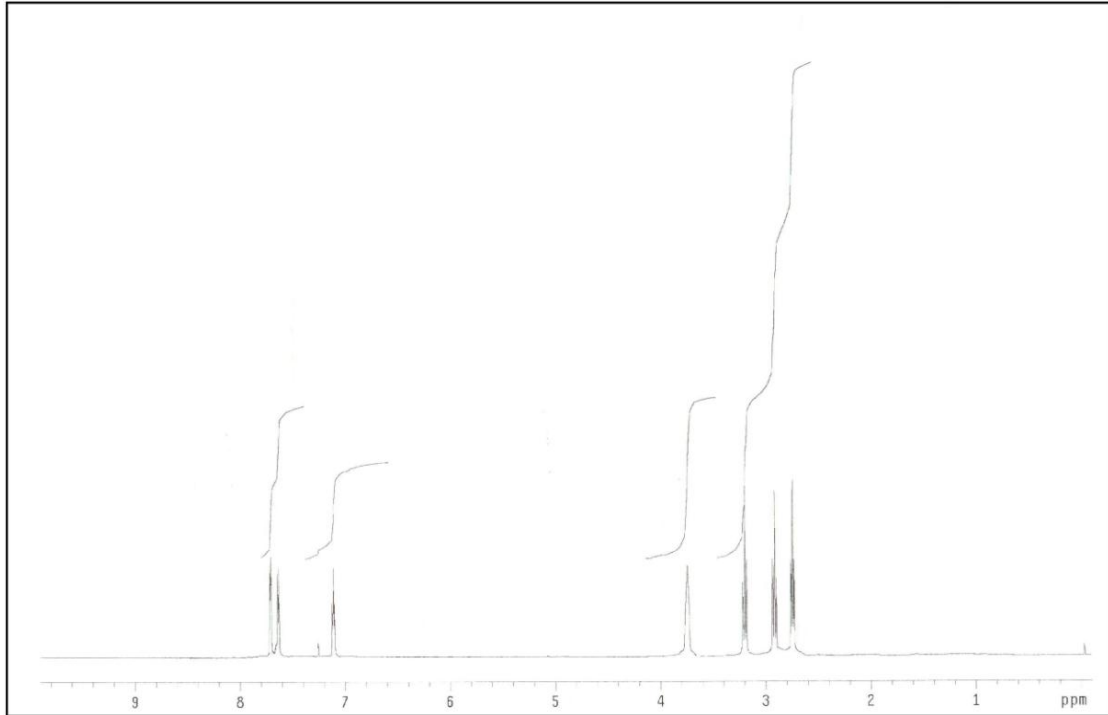
$\delta$  7.68 (dd,  $J = 1.1$  Hz,  $J = 3.6$  Hz, 1H), 7.60 (dd,  $J = 1.2$  Hz,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 7.07 (dd,  $J = 3.6$  Hz,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 3.71 (bs, 2H), 3.16 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.69 (m, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.37)**

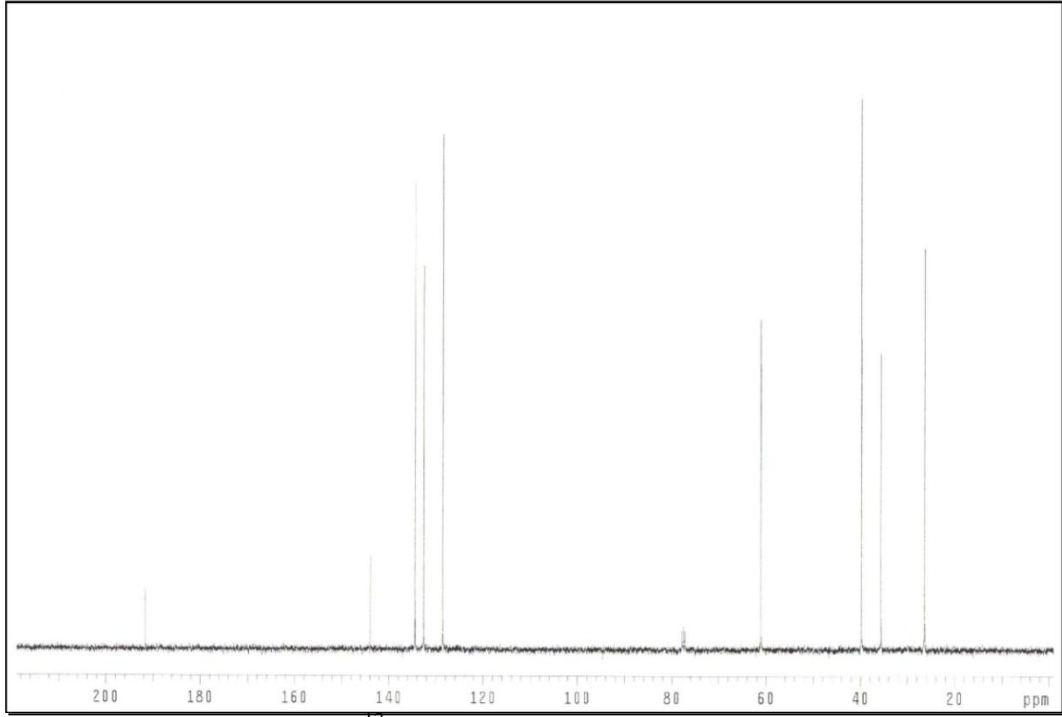
$\delta$  26.3, 35.5, 39.7, 61.0, 128.5, 132.6, 134.4, 143.8, 191.6

**Kütle spektrumu (Şekil 3.38)**

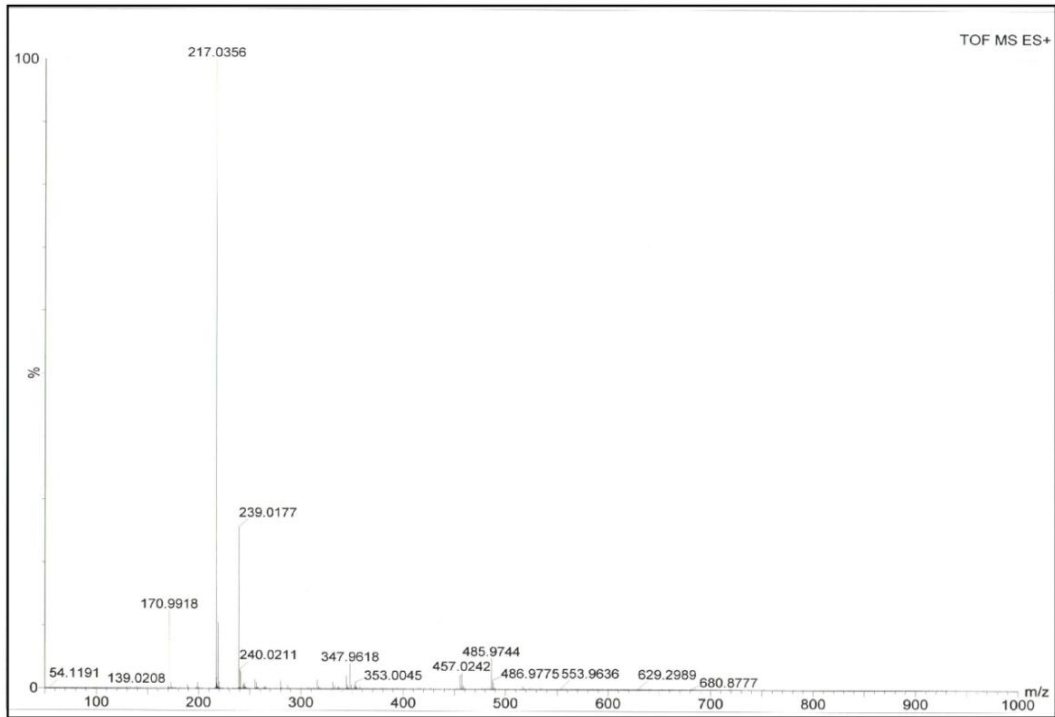
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) m/z: M<sup>+</sup> +1 (217.0356)



**Şekil 3.36.** EU7 bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.37. EU7 bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

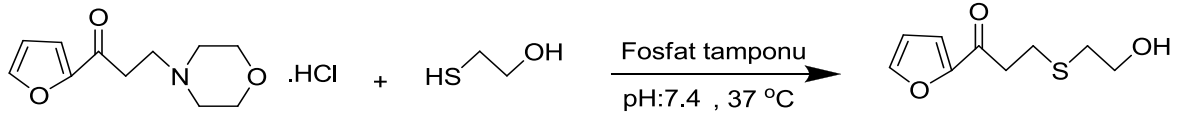


Şekil 3.38. EU7 bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3.15. 3-(2-Hidroksietiltiy)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) Bileşiminin A8

#### Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.16 g, 2.03 mmol), 1-(furan-2-il)-3-morfolino-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 2.03 mmol, A8) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 7 saat 10 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki A8 bileşiminin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiy)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) bileşiği % 58.41 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.



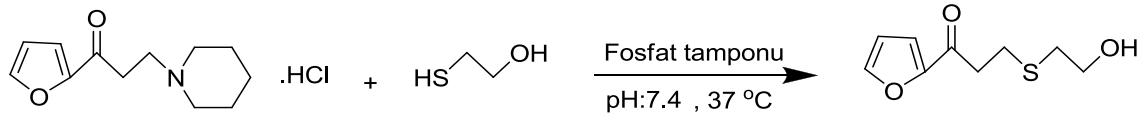
Şekil 3.39. EU8 bileşiminin A8 bileşiminden hareketle sentezi

### 3.2.3.16. 3-(2-Hidroksietiltiy)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) Bileşiminin B8

#### Bileşiminden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.032 g, 0.41 mmol), 1-(furan-2-il)-3-piperidino-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.41 mmol, B8) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 29 saat sonundaki İTK verileri ile 77 saat 30 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiy)-1-(furan-2-il)propanon (EU8) bileşiği % 67.11 verimle renksiz viskoz madde olarak elde edildi.





**Şekil 3.40.** EU8 bileşiğinin B8 bileşiğinden hareketle sentezi

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.41)**

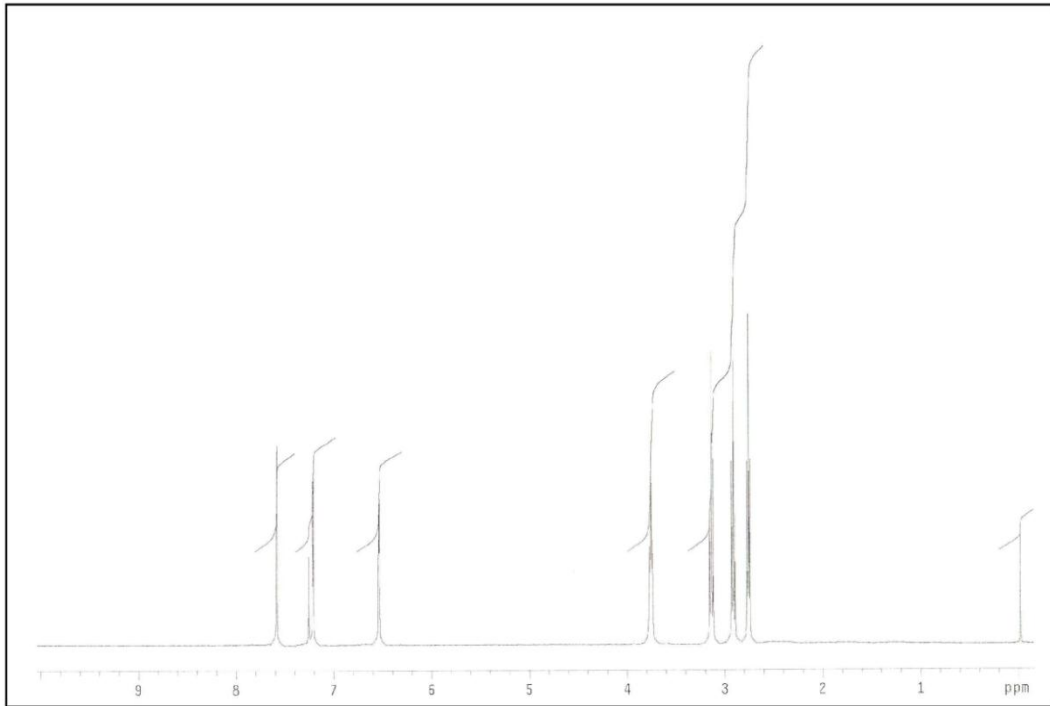
$\delta$  7.57 (t,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 7.19 (m, 1H), 6.52 (q,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 3.73 (t,  $J = 5.6$  Hz, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.72 (q,  $J = 5.6$  Hz, 2H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.42)**

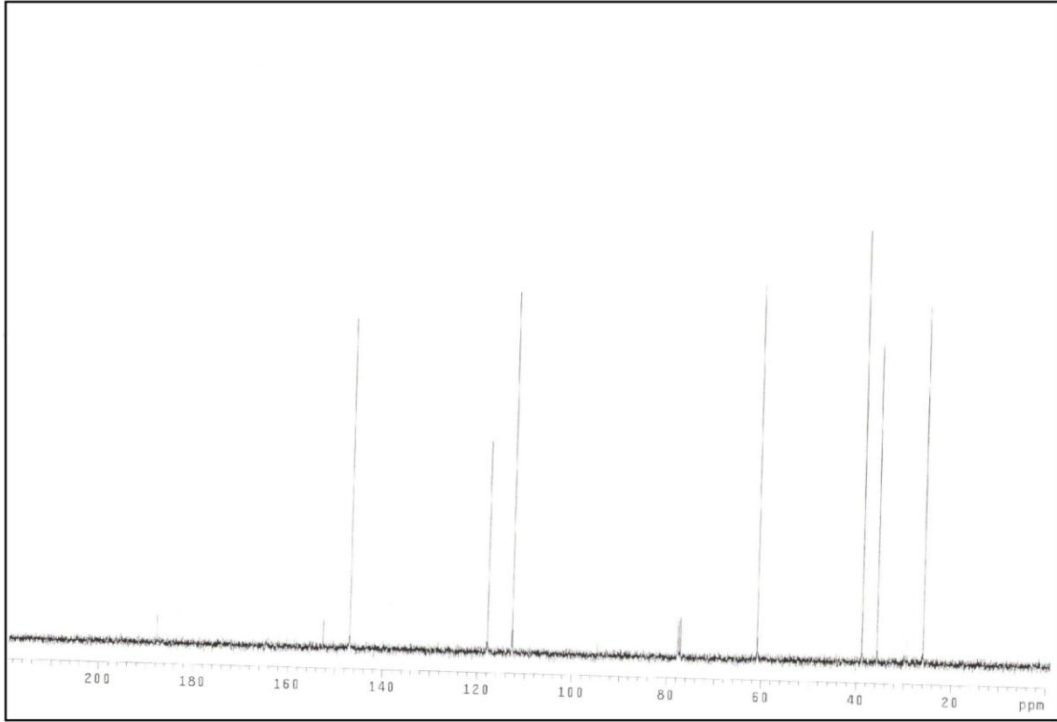
$\delta$  25.8, 35.6, 38.8, 60.8, 112.6, 117.8, 146.9, 152.5, 187.7

**Kütle spektrumu (Şekil 3.43)**

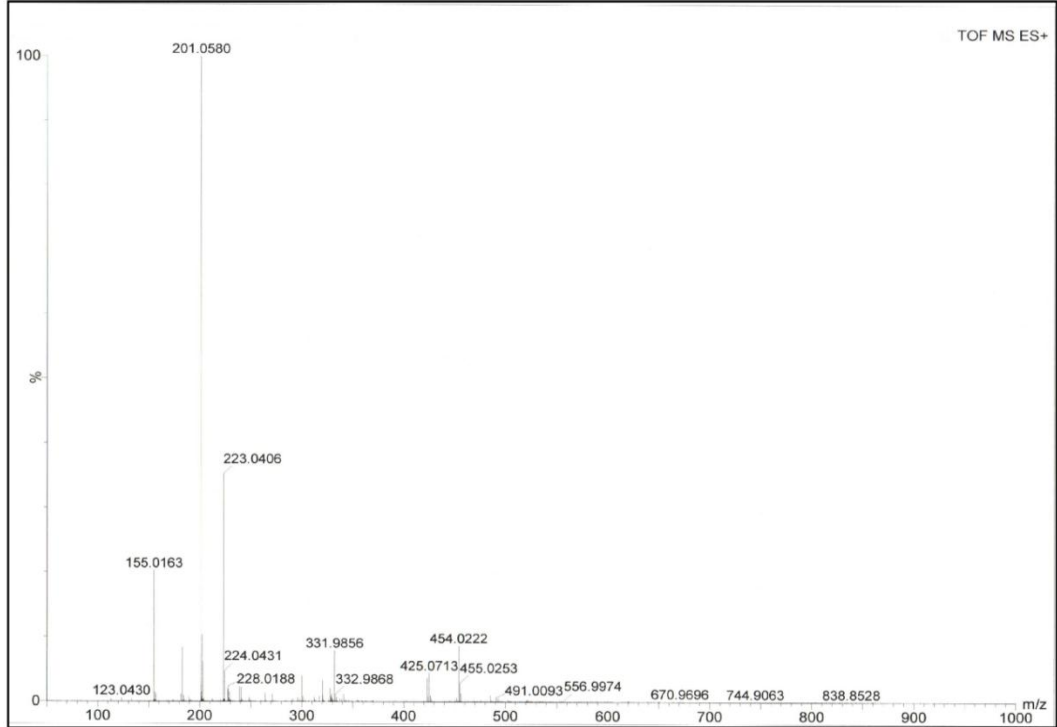
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) m/z: M<sup>+</sup>+1 (201.0580)



**Şekil 3.41.** EU8 bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.42. EU8 bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

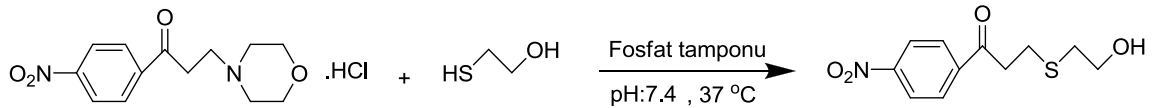


Şekil 3.43. EU8 bileşiğinin kütle spektrumu

### 3.2.3.17. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) Bileşiğinin

#### A9 Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.13 g, 1.66 mmol), 3-morfolino-1-(4-nitrofenil)-1-propanon hidroklorür (0.5 g, 1.66 mmol, A9) ile fosfat tampon (10 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. İTK sonuçlarına göre 7 saat 10 dakika sonunda reaksiyon ortamındaki A9 bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinden reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) bileşiği % 72.55 verimle sarı viskoz madde olarak elde edildi.



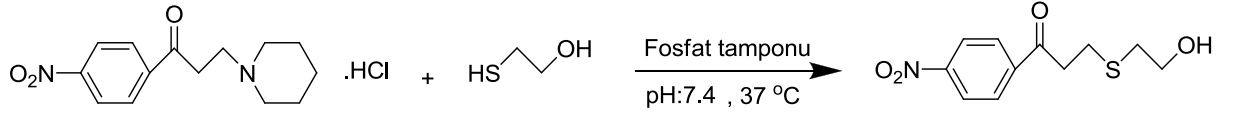
Şekil 3.44. EU9 bileşiğinin A9 bileşiğinden hareketle sentezi

### 3.2.3.18. 3-(2-Hidroksietiltiyo)-1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) Bileşiğinin

#### B9 Bileşiğinden Hareketle Sentezi

2-Merkaptoetanol (0.026 g, 0.33 mmol), 3-piperidino-1-(4-nitrofenil)-1-propanon hidroklorür (0.1 g, 0.33 mmol, B9) ile fosfat tampon (5 ml, pH = 7.4) içerisinde 37 °C'de çalkalandı. Reaksiyonun yürüyüşü İTK ile izlendi. 24 saat sonundaki İTK verileri ile 52 saat 30 dakika sonundaki İTK verilerinin benzer olması nedeniyle reaksiyona son verildi. Reaksiyon içeriği kloroform (3x10 ml) ve daha sonra distile su (3x10 ml) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat üzerinde kurutuldu. Çözücü alçak basınçta uzaklaştırıldı. Ham ürün etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. 3-(2-hidroksietiltiyo)-

1-(4-nitrofenil)propanon (EU9) bileşigi % 19.16 verimle sarı viskoz madde olarak elde edildi.



**Şekil 3.45.** EU9 bileşiginin B9 bileşiginden hareketle sentezi

### **<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.46)**

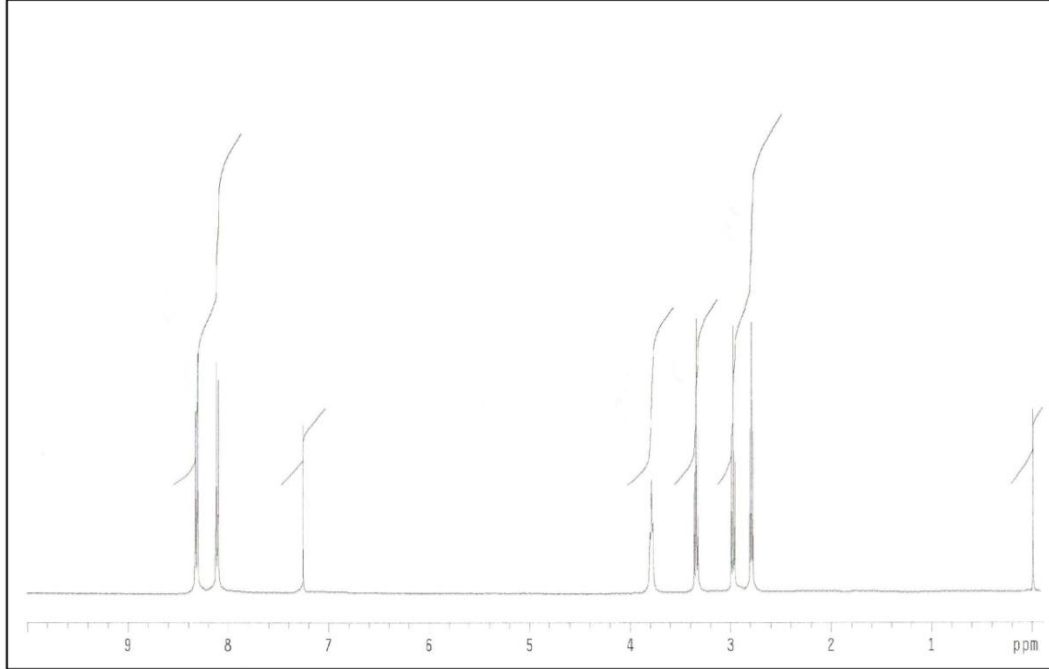
δ 8.33-8.31 (AA', AA'XX' sistem, d,  $J = 9$  Hz, 2H), 8.12-8.10 (XX', AA'XX' sistem, d,  $J = 9$  Hz, 2H), 3.78 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 3.34 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 2.97 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 2.79 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H)

### **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) (Şekil 3.47)**

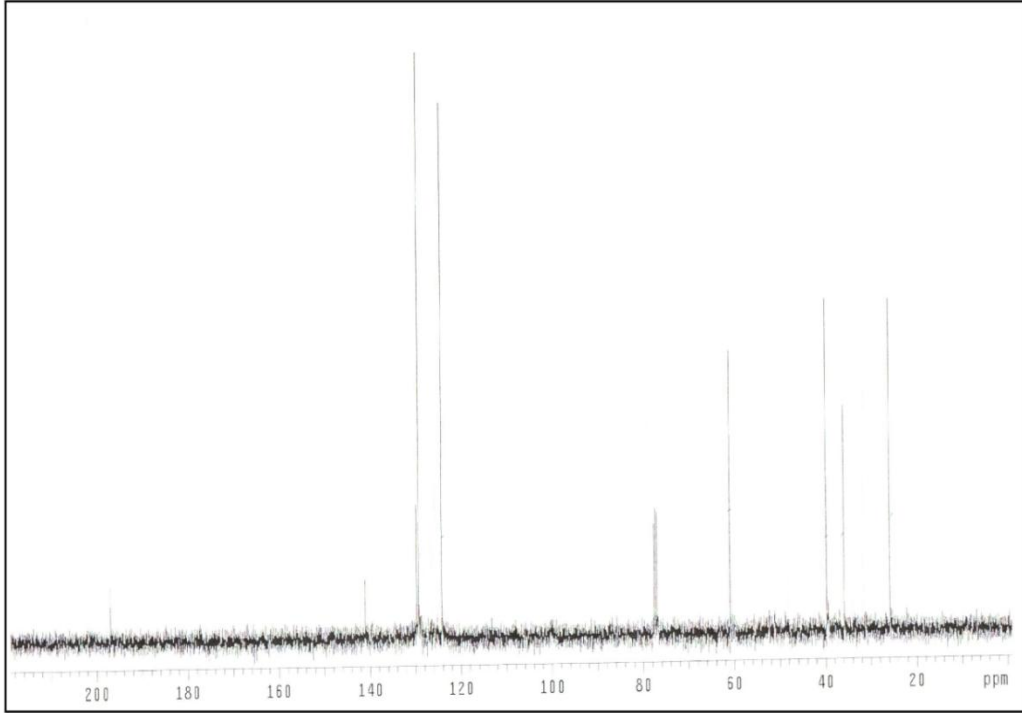
δ 25.8, 35.9, 39.7, 60.9, 124.1, 129.3, 129.7, 141.0, 197.0

### **Kütle spektrumu (Şekil 3.48)**

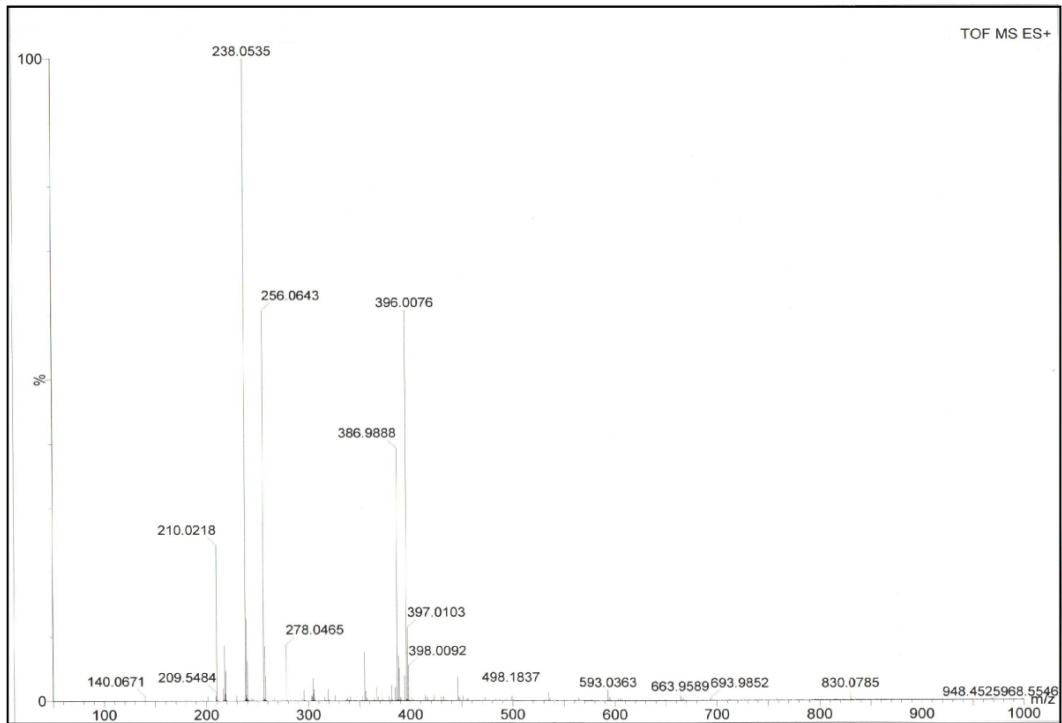
TOF-MS [ES(+)] (CH<sub>3</sub>OH) m/z: M<sup>+</sup>+1 (256.0643)



**Şekil 3.46.** EU9 bileşiginin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil 3.47. EU9 bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil 3.48. EU9 bileşiğinin kütle spektrumu

### **3.3. Biyoaktivite Çalışmaları**

#### **3.3.1. Gereç ve Yöntem**

##### **Materyal**

Aşağıdaki kimyasallar belirtilen şirketlerden alınmıştır: 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).

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. Yalnız HL-60 hücreleri (RIKEN, Tukuba, Japonya) %10 FBS ve antibiyotik eklenmiş RPMI1640 ortamında kültüre edilmişlerdir. İnsan ağız çok katlı hücre karsinomu (OSCC) hücreleri (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.

#### **3.3.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi**

Hücreler 96 kuyucuklu (Becton Dickenson, Franklin Lakes, NJ, ABD) platalere ( $3 \times 10^3$  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 örneklerle maruz bırakılmıştır. Relatif tutunmuş canlı hücre sayısı (HL-60 hücreleri hariç) MTT yöntemi<sup>71</sup> ile belirlenmiştir. Yüzen hücrelerin canlılığı ise, örneğin HL60 hücreleri, %0.15'lik Tripan

mavisiyle boyayarak bir hemositometre ile sayma yoluyla belirlenmiştir.<sup>71</sup> %50 sitotoksik doz (CC<sub>50</sub>) doz-yanıt eğrisinden belirlenmiştir. Tümör spesifisite indeksi (SI) şu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$SI = \frac{\text{Normal hücrelere karşı ortalama } CC_{50}}{\text{tüm tümör hücrelerine karşı ortalama } CC_{50}}$$

### **3.3.3. PARP1 Yapışma Testi**

Western blot yöntemi uygulanmıştır. HSC-2 hücreleri 50 µg/ml ile muamele edilmiştir. PARP1 yapışması Promega PARP1 (Asp 214) insan spesifik antikoru (Cell Signaling Technology, Inc. Boston, MA, US) kullanılarak ölçülmüştür. Kısaca, hücreler buz soğukluğunda PBS ile yıkandı, kazındı ve lizis tamponunda toplanmıştır (lizis tamponu: 20 mM HEPES pH = 7.4, 1% Triton-X 100, 150 mM NaCl, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 12.5 mM β-gliserofosfat, 2 mM EGTA, 10 mM NaF, 2 mM DTT, 1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1 mM PMSF plus 1×proteaz inhibitor). Hücre lizatları %8 SDS-PAGE'e uygulanmış ve jellerdeki protein bantları poliviniliden diflorid membranlara aktarılmıştır. %5'lik yağsız kuru süt ile bloklanan membranlar önce primer antikorla [anti-cleaved PARP1 (Cell Signaling Technology, Beverly, MA), anti-β-actin antibody (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)] daha sonra da horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse veya anti-rabbit sekonder antikorlarla inkübe edilmiştir.<sup>72</sup> Deneysel veriler Tablo 4.7 ve Şekil 4.49'da sunulmuştur.

### **İstatistiksel Değerlendirme**

İki grup arasındaki fark Student's t-testi ile değerlendirildi.

## 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, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3’de sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerin yapısı  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ve TOF-MS spektrumları ile doğrulanmıştır. Spektrumlar ve değerlendirmeleri deneysel bölümde detaylı bir biçimde verilmiş, bu spektral analizlerin toplu değerlendirmeleri Tablo 4.4, Tablo 4.5 ve Tablo 4.6’da sunulmuştur.

### 4.2. Biyoaktivite Bulguları

EU1-EU9 bileşiklerin tümü insan HL-60 promiyelositik lösemi hücreleri ve insan HSC-2, HSC-3 ve HSC-4 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 4.7’de sunulmuştur. EU9 bileşiği örnek olarak ele alınarak kanserli (HSC2) ve normal (HGF) hücre hatları üzerinde 50  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda 24 saatte gerçekleştirilen PARP1 testi sonuçları Şekil 4.49’da sunulmuştur.



**Tablo 4.1** 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon bileşiklerinin A1-A9 bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler

| Bileşik | Aril   | A1-A9<br>(mmol) | 2-Merkapto<br>etanol<br>(mmol) | Reaksiyon<br>süresi<br>(dk) | Verim<br>(%) |
|---------|--|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------|
| EU1     | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>                    | 1.95            | 1.95                           | 540                         | 88.01        |
| EU2     | 4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | 1.85            | 1.85                           | 3030                        | 77.83        |
| EU3     | 4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 1.75            | 1.75                           | 3030                        | 89.04        |
| EU4     | 4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                 | 1.83            | 1.83                           | 1225                        | 76.94        |
| EU5     | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 1.72            | 1.72                           | 1225                        | 63.08        |
| EU6     | 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 1.49            | 1.49                           | 1640                        | 75.39        |
| EU7     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> S(2-il)            | 1.91            | 1.91                           | 540                         | 80.59        |
| EU8     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> O(2-il)            | 2.03            | 2.03                           | 430                         | 58.41        |
| EU9     | 4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | 1.66            | 1.66                           | 430                         | 72.55        |

EU1-EU9 bileşikleri için karşılık gelen A1-A9 bileşikleri kullanılmıştır. Reaksiyonlar fosfat tamponu içinde (10 ml, pH=7.4, 37 °C) gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin saflaştırılması etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 4.2.** 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon bileşiklerinin B1-B9 bileşiklerinden hareketle sentezine ilişkin deneysel veriler

| Bileşik | Aril   | B1-B9<br>(mmol) | 2-Merkapto<br>etanol<br>(mmol) | Reaksiyon<br>süresi<br>(dk) | Verim<br>(%) |
|---------|--|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------|
| EU1     | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>                    | 0.39            | 0.39                           | 2640                        | 82.38        |
| EU2     | 4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | 0.37            | 0.37                           | 5785                        | 70.49        |
| EU3     | 4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | 0.35            | 0.35                           | 5785                        | 71.75        |
| EU4     | 4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                 | 0.36            | 0.36                           | 2750                        | 89.39        |
| EU5     | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 0.34            | 0.34                           | 4640                        | 81.78        |
| EU6     | 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 0.30            | 0.30                           | 1325                        | 82.39        |
| EU7     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> S(2-il)            | 0.38            | 0.38                           | 2595                        | 88.81        |
| EU8     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> O(2-il)            | 0.41            | 0.41                           | 4650                        | 67.11        |
| EU9     | 4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | 0.33            | 0.33                           | 3150                        | 19.16        |

EU1-EU9 bileşikleri için karşılık gelen B1-B9 bileşikleri kullanılmıştır. Reaksiyonlar fosfat tamponu içinde (5 ml, pH=7.4, 37 °C) gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin saflaştırılması etilasetat:hekzan (8:2) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 4.3.** 1-Aril-3-(2-hidroksietiltiy)-1-propanon kimyasal yapısına sahip bileşiklerin A ve B serisi başlangıç maddelerinden hareketle sentezine ilişkin reaksiyon süre ve verimlerinin karşılaştırılması

| Bileşik | Aril   | Reaksiyon süresi<br>(dk) |             | Reaksiyon<br>süreleri oranı<br>B / A | Verim<br>(%) |              |
|---------|--|--------------------------|-------------|--------------------------------------|--------------|--------------|
|         |  | A                        | B           |                                      | A            | B            |
| EU1     | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>                    | <b>540</b>               | 2640        | 4.9                                  | <b>88.01</b> | 82.38        |
| EU2     | 4-CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | <b>3030</b>              | 5785        | 1.9                                  | <b>77.83</b> | 70.49        |
| EU3     | 4-CH <sub>3</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | <b>3030</b>              | 5785        | 1.9                                  | <b>89.04</b> | 71.75        |
| EU4     | 4-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                 | <b>1225</b>              | 2750        | 2.2                                  | 76.94        | <b>89.39</b> |
| EU5     | 4-ClC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | <b>1225</b>              | 4640        | 3.8                                  | 63.08        | <b>81.78</b> |
| EU6     | 4-BrC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                | 1640                     | <b>1325</b> | <b>0.8</b>                           | 75.39        | <b>82.39</b> |
| EU7     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> S(2-il)            | <b>540</b>               | 2595        | 4.8                                  | 80.59        | <b>88.81</b> |
| EU8     | C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> O(2-il)            | <b>430</b>               | 4650        | 10.8                                 | 58.41        | <b>67.11</b> |
| EU9     | 4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>  | <b>430</b>               | 3150        | 7.3                                  | <b>72.55</b> | 19.16        |

**Tablo 4.4.** Sentezlenen bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR sonuçları

| Bileşik | δ (ppm)  |
|---------|--|
| EU1     | δ 7.86-7.84 (A, ABX sistem, d, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 7.49-7.45 (X, ABX sistem, dd, <i>J</i> = 7.5 Hz, 1H), 7.38-7.33 (B, ABX sistem, dd, <i>J</i> = 7.5 Hz, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.19 (m, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.68 (m, 2H)                                |
| EU2     | δ 7.79 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H), 7.19 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H), 3.73 (bs, 2H), 3.20 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.87 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.71 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H)   |
| EU3     | δ 7.77 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 6.77 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.65 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 3.07 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 2.77 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H), 2.62 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz, 2H)                                     |
| EU4     | δ 7.90 (dd, <i>J</i> = 5.8 Hz, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 7.05 (t, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H), 3.71 (q, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 3.19 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.86 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.70 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H)                               |
| EU5     | δ 7.84-7.81 (AA', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 7.38-7.36 (XX', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 8.7 Hz, 2H), 3.73 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 3.21 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.88 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H), 2.72 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz, 2H) |
| EU6     | δ 7.83-7.81 (AA', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H), 7.63-7.61 (XX', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 8.6 Hz, 2H), 3.78 (q, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 3.25 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.94 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H), 2.78 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 2H) |
| EU7     | δ 7.68 (dd, <i>J</i> = 1.1 Hz, <i>J</i> = 3.6 Hz, 1H), 7.60 (dd, <i>J</i> = 1.2 Hz, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 7.07 (dd, <i>J</i> = 3.6 Hz, <i>J</i> = 4.8 Hz, 1H), 3.71 (bs, 2H), 3.16 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.69 (m, 2H)                                 |
| EU8     | δ 7.57 (t, <i>J</i> = 1.2 Hz, 1H), 7.19 (m, 1H), 6.52 (q, <i>J</i> = 1.2 Hz, 1H), 3.73 (t, <i>J</i> = 5.6 Hz, 2H), 3.11 (m, 2H), 2.86 (m, 2H), 2.72 (q, <i>J</i> = 5.6 Hz, 2H)   |
| EU9     | δ 8.33-8.31 (AA', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 9 Hz, 2H), 8.12-8.10 (XX', AA'XX' sistem, d, <i>J</i> = 9 Hz, 2H), 3.78 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H), 3.34 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H), 2.97 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H), 2.79 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H)     |

**Tablo 4.5.** Sentezlenen bileşiklerin <sup>13</sup>C-NMR Sonuçları

| Bileşik | $\delta$ (ppm)  |
|---------|---|
| EU1     | 26.2, 35.5, 39.1, 61.1, 128.2, 128.8, 133.6, 136.6, 198.8       |
| EU2     | 21.8, 26.2, 35.6, 38.9, 61.0, 128.3, 129.5, 134.1, 144.4, 198.3 |
| EU3     | 26.4, 35.3, 38.7, 55.6, 61.2, 113.9, 129.6, 130.5, 163.7, 197.2 |
| EU4     | 26.1, 35.6, 39.0, 61.0, 116.0, 130.9, 133.1, 167.2, 197.0       |
| EU5     | 26.0, 35.7, 39.1, 61.0, 129.2, 129.6, 134.9, 140.0, 197.4       |
| EU6     | 25.9, 36.0, 39.0, 60.7, 126.6, 129.7, 131.7, 132.2, 197.47      |
| EU7     | 26.3, 35.5, 39.7, 61.0, 128.5, 132.6, 134.4, 143.8, 191.6       |
| EU8     | 25.8, 35.6, 38.8, 60.8, 112.6, 117.8, 146.9, 152.5, 187.7       |
| EU9     | 25.8, 35.9, 39.7, 60.9, 124.1, 129.3, 129.7, 141.0, 197.0       |

**Tablo 4.6.** Sentezlenen bileşiklerin TOF-MS sonuçları

| Bileşik | $M^+ + 1$<br>Hesaplanan* | $M^+ + 1$<br>Ölçülen# |
|---------|--------------------------|-----------------------|
| EU1     | 211.0748                 | 211.0793              |
| EU2     | 225.0905                 | 225.0949              |
| EU3     | 241.0854                 | 241.0898              |
| EU4     | 229.0654                 | 229.0699              |
| EU5     | 245.0325                 | 245.0403              |
| EU6     | 288.9820                 | 288.9898              |
| EU7     | 217.0312                 | 217.0356              |
| EU8     | 201.0541                 | 201.0580              |
| EU9     | 256.0599                 | 256.0644              |

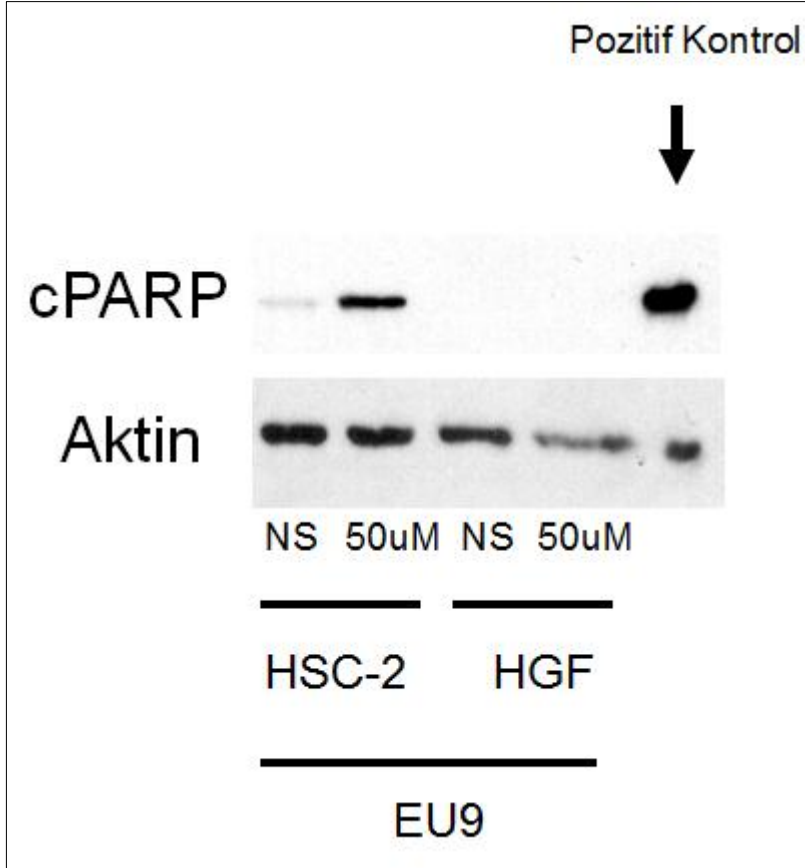
\*: ChemDriver 2008 versiyonu ile hesaplanan

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

**Tablo 4.7.** EU1-EU9 bileşiklerinin sitotoksitesisi

|           | CC <sub>50</sub> (μM) |         |          |          |                        |        |         | SI     |
|-----------|-----------------------|---------|----------|----------|------------------------|--------|---------|--------|
|           | İnsan Tümör Hücreleri |         |          |          | İnsan Normal Hücreleri |        |         |        |
|           | HSC-2                 | HSC-3   | HSC-4    | HL-60    | HGF                    | HPC    | HPLF    |        |
| EU1       | >400                  | >400    | >400     | >400     | >400                   | >400   | >400    | <<1.0  |
| EU2       | >400                  | >400    | >400     | 340±58   | >400                   | >400   | 331±32  | <<1.0  |
| EU3       | >400                  | >400    | >400     | 338±38   | >400                   | >400   | >400    | <<1.0  |
| EU4       | >400                  | >400    | >400     | >400     | >400                   | >400   | >400    | <<1.0  |
| EU5       | 337±4                 | 292±8   | 380±6    | 167±17   | 328±5                  | >400   | 317±12  | >1.2   |
| EU6       | 336±16                | 302±40  | >400     | 158±15   | 322±13                 | >400   | 321±21  | >1.2   |
| EU7       | >400                  | 320±20  | >400     | >400     | >400                   | >400   | >400    | <<1.1  |
| EU8       | 377±16                | 363±30  | >400     | >400     | 325±41                 | >400   | >400    | <<0.97 |
| EU9       | 49±6                  | 50±8    | 68±2     | 15±1     | 72±2                   | 39±2.0 | 64±16   | 1.3    |
| 5-FU      | 4.9±0.91              | 47±7.2  | 2.5±0.25 | 10±1.1   | >100                   | >100   | >100    | >6.2   |
| Melphalan | 6.2±0.32              | 19±0.58 | 36±1.7   | 1.0±0.04 | 96±6.4                 | 83±4.5 | 80±0.58 | 5.5    |

CC<sub>50</sub> : Hücrelerin %50'sini öldüren bileşiklerin mikromolar (μm) olarak konsantrasyonu, SI : Selektivite İndeksi



**Şekil 4.49.** EU9 bileşiminin kanserli (HSC2) ve normal (HGF) hücre hatları üzerinde 50  $\mu$ M konsantrasyonda 24 saatteki etkisi

NS : Maddesiz (Kör)

## 5. TARTIŞMA

EU1-EU9 bileşikleri, karşılık gelen A ve B serisi bileşiklerden hareketle 2-merkaptolanol ile pH'ı 7.4 olan fosfat tamponda 37 °C'de bileşikler 1:1 oranlarında reaksiyona sokularak başarı ile sentez edilmiştir.

EU2, EU3, EU5, EU6 ve EU8 bileşikleri ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir.

EU1,<sup>73</sup> EU9,<sup>74</sup> EU4\* ve EU7# bileşiklerine literatürde rastlanmıştır. EU2, EU3, EU5 ve EU6 bileşikleri katı; EU1, EU7, EU8 ve EU9 bileşikleri viskoz sıvı formdadır. EU4 bileşiği +4 °C'de katı, oda sıcaklığında viskoz sıvı formdadır.

A serisi bileşiklerden hareketle EU1-EU9 bileşiklerinin sentezi sırasında başlangıç maddeleri A2 ve A3 ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda 50 saatlik bir süre sonunda dahi A2 ve A3 bileşikleri tükenmemiştir.

B serisi bileşiklerden hareketle EU1-EU9 bileşiklerinin sentezi sırasında başlangıç maddeleri B2, B3, B5, B8 ve B9 ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda 77-96 saat gibi uzun reaksiyon sürelerinde dahi B2, B3, B5, B8 ve B9 tükenmemiştir.

Bileşiklerin kimyasal yapıları <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve TOF-MS spektrumları ile aydınlatılmış ve yapı ile uyumlu bulunmuştur. Örnek olarak bileşik EU2'nin spektral verileri değerlendirildiğinde:

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (Tablo 4.4);  $\delta$  7.79 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 3.73 (bs, 2H), 3.20 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.87 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.71 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 2.34 (s, 3H) gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda (Tablo 4.5); 21.8, 26.2, 35.6, 38.9, 61.0, 128.3, 129.5, 134.1, 144.4, 198.3 gözlenmiştir. Veriler kimyasal yapı ile uyumludur.

---

\*: Ambinter, Amb9660255; Ryan Scientific, BBV-27268466; Aurora Fine Chemicals LLC, A01.266.815; Scientific Exchange, F-396534; Ukrorgsyntez Ltd, BBV-27268466  
#: Scientific Exchange, F-396551

TOF-MS spektrumunda (Tablo 4.6); hesaplanan  $M^{+1}$  225.0905 değeri iken ölçülen  $M^{+1}$  değeri 225.0949. Bu sonuçlar kimyasal yapıyı doğrulamaktadır.

EU1-EU9 bileşiklerinin sentezinde uygun A1-A9 başlangıç maddelerinden yola çıkılarak gerçekleştirilen reaksiyonlar ile uygun B1-B9 başlangıç maddelerinden yola çıkılarak gerçekleştirilen reaksiyonlar, reaksiyon süresi açısından karşılaştırıldığında morfolinli A serisinden yola çıkılarak elde edilen EU bileşiklerinde reaksiyon süreleri B serisinden yola çıkılarak EU bileşiklerini elde etmeye kıyasla reaksiyon 1.9-10.8 kat oranında kısadır. Bu oranlar şöyledir: [(A1, 4.9 kat), (A2, 1.9 kat), (A3, 1.9 kat), (A4, 2.2 kat), (A5, 3.8 kat), (A7, 4.8 kat), (A8, 10.8 kat), (A9, 7.3 kat)]. A6 kullanılarak EU6 eldesinde, B6 kullanılarak EU6 eldesine göre reaksiyon süresinin uzamış olması istisnadır.

A ve B serilerinden yola çıkılarak gerçekleştirilen EU bileşiklerinin verimleri açısından kıyaslandığında; A serisinden yola çıkıldığında [(EU1, %5.6), (EU2, %7.3), (EU3, %17.3), (EU9, %52.9)] bileşikler parantez içinde gösterilen oranlarda daha yüksek verimle elde edilmiştir. Aynı durum B serisinden hareketle [(EU4, %12.5), (EU5, %18.7), (EU6, %7), (EU7, %8.2), (EU8, %8.7)] bileşiklerinin sentezinde de geçerli olmuştur.

Özet olarak; A serisinden yola çıkılarak EU bileşiklerinin sentezinde reaksiyon süresi oldukça kısalmaktadır. Reaksiyon veriminin yüksekliği kullanılan başlangıç maddelerine göre değişkenlik göstermiştir. Reaksiyon % verimi açısından en belirgin fark nitroli bileşik EU9'da gözlenmiştir. A serisinden yola çıkıldığında ~3 kat daha verimli EU9 bileşiği elde edilmektedir.

Yapılan sitotoksosite testlerinde EU1, EU2, EU3, EU4, EU7 ve EU8 bileşikleri 400  $\mu$ M civarı ve üzerindeki konsantrasyonlarda hem kanserli hem de normal hücre hattına karşı sitotoksosite göstermiştir. Bu yüzden sitotoksisiteleri selektif



bulunmamıştır. EU5 ve EU6 bileşikleri ise kanserli hücre hattına karşı bir miktar daha sitotoksik bulunmuştur. Bu bileşiklerin sitotoksikite selektivite indeksleri  $\geq 1.2$  civarındadır. Bileşiklerden EU9, selektivite indeksi en yüksek olanıdır. Selektivite indeksi değeri  $\geq 1.3$ 'tür.

Tüm bileşiklerin SI değeri referans bileşikler 5-FU ve melfalandan daha düşüktür.

Birçok sitotoksinin, etkisini apoptozisi indükleyerek gösterdiği bilinir.<sup>5, 16</sup> DNA çift sarmalının tekindeki kırılmaların poli(ADP-riboz)polimeraz (PARP1) enzimi tarafından tamir edilebilmesi<sup>50</sup> yaklaşımından hareketle, seçilecek bir temsilci bileşiğin PARP1'e yapışma etkisi test edilerek bileşiklerin etki mekanizmasında PARP1 yapışmasının rol oynayıp oynamadığı araştırılmıştır. 50  $\mu$ M konsantrasyonda EU9 bileşiği normal hücreler olan HGF hücreleri üzerinde etki göstermezken kanserli hücreler olan HSC-2 hücreleri üzerinde 24 saatte etki göstermesi bileşiklerin sitotoksik etki mekanizmasında PARP1'in kısmen de olsa rol oynayabileceği düşünülmüştür.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında tasarlanan bileşiklerin tümü başarı ile sentezlenmiş, kimyasal yapıları  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  ve TOF-MS ile aydınlatılmış, literatüre sitotoksik etkileri rapor edilen birçok yeni bileşik kazandırılmıştır. 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür ve 1-aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür kimyasal yapılı mono Mannich bazlarının sitotoksik etki mekanizmasında tiyol alkilasyonunun etkili bir mekanizma olabileceği ortaya konulmuştur.

Ayrıca, 1-aril-3-(2-hidroksietiltiyo)-1-propanon bileşiklerinin sitotoksik aktivitesinden PARP1 yapışmasının kısmen de olsa sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik olması, ancak selektivitelerinin düşük olması ileriki sentezlerde farklı moleküler modifikasyon yöntemlerinin kullanılmasının göz önünde bulundurulması gerektiğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Ertan M. Antikanser İlaçlar. İçinde: Palaska E.(editör). *Farmasötik Kimya*, 2. Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004: 1213-1258.
2. Blakely T, Hales S, Woodward A, Prüss-Üstün A, Campbell-Lendrum D, Corvalán C. Assessing the distribution of health risks by socioeconomic position at national and local levels. *World Health Organization*, 2004: 11-66.
3. Pitot HC, Loeb DD. *Fundamentals of Oncology*, 3<sup>th</sup> ed. New York, Dekker Press, 1986: 19-21.
4. Baserga R. Principles of molecular cell biology of cancer: The cell cycle. In: Devita VT, Hellnlan S, Rosenberg SA. (eds) *Cancer Principles and Practice*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, JB Lippincott Company, 1993: 60-66.
5. Tsurusawa M, Saeki K, Fujimoto T. Differential induction of apoptosis on human lymphoblastic leukemia Nalm-6 and Molt-4 cells by various antitumor drugs. *International Journal of Hematology*, 1997, 66:79-88.
6. Gold LS, Slone TH, Manley NB, Ames BN. *Misconceptions About the Causes of Cancer*. Canada, The Fraser Institute, 2002: 125-155.
7. Albert A. *Selective Toxicity: The Physico-Chemical Basis of Therapy*. 5<sup>th</sup> ed. UK, Chapman and Hall London, 1985: 357-417.
8. Fiala S, Trout Jr E, Teague C, Fiala E. gamma-Glutamyltransferase, a common marker of human epithelial tumors? *Cancer Detection and Prevention*, 1980, 3: 471-485.
9. Robbins S, Cotran R, Kumar V. Cellular injury and adaptation. *Pathologic Basis of Disease*, 1984, 3: 1-40.
10. Diamandopoulos GT. Cancer: An historical perspective. *Anticancer Research*, 1996, 16: 1595-1602.

11. Gallucci BB. In Selected concepts of cancer as a disease: From the Greeks to 1900. *Oncology Nursing Forum*. 1985, 12: 67-71.
12. Halsted W, Young H, Clark J. Early contributions to the surgery of cancer. *Johns Hopkins Medical Journal*, 1974, 135: 399-417.
13. Kardinal CG, Yarbrow JW. A conceptual history of cancer. *USA*, 1979, 6: 396-408.
14. Meisels A, Morin C, Giri D, Hoda RS. Cytopathology of the uterus. *International Journal of Gynecologic Pathology*, 1998, 17: 286.
15. Frei FE. Effect of dose and schedule on response. *Cancer Medicine*, 1973: 717-730.
16. Gunji H, Kharbanda S, Kufe D. Induction of internucleosomal DNA fragmentation in human myeloid leukemia cells by 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Research*, 1991, 51:741-743.
17. House HO. *Organic Compounds and Synthesis*. California, Menlo Park, 1972: 211-267
18. Pratt WB, Ruddon RW. *The Anticancer Drugs*, New York, Oxford University Press, 1979: 221-235.
19. Ottenbrite RM. *Anticancer and Interferon Agents: Synthesis and Properties*, New York, Marcel Dekker, 1984:24.
20. Sosnovsky G, Baysal M, Erciyas E. In the search for new anticancer drugs. 28. Synthesis and evaluation of highly active aminoxyl labeled amino acid derivatives containing the [N;-(2-chloroethyl)-N'-nitrosoamino] carbonyl group. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1994, 83: 999-1005.
21. Dimmock J, Kumar P. Anticancer and cytotoxic properties of Mannich bases. *Current Medicinal Chemistry*, 1997, 4: 1-22.

22. Mannich C, Krösche W. Ueber ein kondensationsprodukt aus formaldehyd, ammoniak und antipyrin. *Archiv der Pharmazie*, 2006, 250: 647-667.
23. Arend M, Westermann B, Risch N. Modern variants of the Mannich reaction. *Angewandte Chemie International Edition*, 1998, 37: 1044-1070.
24. 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.
25. Gul HI, Das U, Pandit B, Li PK. Evaluation of the cytotoxicity of some mono-mannich bases and their corresponding azine derivatives against androgen-independent prostate cancer cells. *Arzneimittel-Forschung*, 2006, 56: 850-855.
26. Gul HI, Gul M, Erciyas E. Syntheses and stability studies of some Mannich bases of acetophenones and evaluation of their cytotoxicity against Jurkat cells. *ChemInform*, 2002, 33: 112-112.
27. 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.
28. 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.
29. 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 $\alpha$ , 7 $\beta$ -dihydroxyvouacapan-17 $\beta$ -oic acid Mannich base derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2010, 18: 8172-8177.

30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. 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: 647-652.
38. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis of some mono-Mannich bases and corresponding azine derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity. *Arzneimittel Forschung*, 2004, 54: 359-364.
39. 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.
40. 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.
41. 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'-trifluoromethyl quinolin-4'-ylamino) phenol against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1987, 81: 85-93.
42. Varma RS, Nobles WL. Antiviral, antibacterial, and antifungal activities of isatin N-Mannich bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1975, 64: 881-882.
43. 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.
44. 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.

45. 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.
46. 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.
47. Dimmock J, Kumar P, Quail J, Pugazhenti 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.
48. 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.
49. Bergmann ED, Ginsburg D, Pappo R. The Michael reaction. *Organic Reactions*, 2011, 10: 179-563.
50. Malanga M, Althaus FR. The role of poly(ADP-ribose) in the DNA damage signaling network. *Biochemistry and Cell Biology*, 2005, 83:354-364.
51. March J. *Advanced Organic Chemistry*. New York, John Wiley and Sons, 1985: 372-374.
52. Dimmock J, Smith L, Smith P. The reaction of some nuclear substituted acyclic conjugated styryl ketones and related Mannich bases with ethanethiol. *Canadian Journal of Chemistry*, 1980, 58: 984-991.



53. Friedman M, Cavins J, Wall J. Relative nucleophilic reactivities of amino groups and mercaptide ions in addition reactions with  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated compounds 1, 2. *Journal of the American Chemical Society*, 1965, 87: 3672-3682.
54. Chu K. The quantitative analysis of structure-activity relationships. *Burger's Medicinal Chemistry*, 1980: 393-418.
55. Hammett LP. The effect of structure upon the reactions of organic compounds. Benzene derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 1937, 59: 96-103.
56. Lewis E. *Techniques of Chemistry*. New York, John Wiley and Sons, 1986.
57. Hansch C, Leo A, Unger SH, Kim KH, Nikaitani D, Lien EJ. Aromatic substituent constants for structure-activity correlations. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1973, 16: 1207-1216.
58. Hansch C, Fujita T. Additions and corrections- $\rho$ - $\sigma$ - $\pi$  analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *Journal of the American Chemical Society*, 1964, 86: 5710-5710.
59. Fujita T, Iwasa J, Hansch C. A new substituent constant,  $\pi$ , derived from partition coefficients. *Journal of the American Chemical Society*, 1964, 86: 5175-5180.
60. Cain B. Commentary. The role of structure-activity studies in the design of antitumor agents. *Cancer Chemotherapy Reports. Part 1*, 1975, 59: 679.
61. Burger A. Drug design and development. A realistic appraisal. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1978, 21: 1-4.
62. Kupchan SM, Eakin M, Thomas A. Tumor inhibitors. 69. Structure-cytotoxicity relations among the sesquiterpene lactones. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1971, 14: 1147-1152.

63. Lin AJ, Pardini RS, Lillis BJ, Sartorelli AC. Potential bioreductive alkylating agents. 4. Inhibition of coenzyme Q enzyme systems by lipoidal benzoquinone and naphthoquinone derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1974, 17: 668-672.
64. Sosnovsky G. The quest for a predictive design of anticancer drugs. *Pure And Applied Chemistry*, 1990, 62: 289-294.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. Uçar G. 1-Aril-3-morfolino-1-propanon hidroklorür Kimyasal Yapısına Sahip Bileşiklerin Mikrodalga ve Konvansiyonel Yöntem İle Sentezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
69. Demirtaş A. 1-Aril-3-piperidino-1-propanon hidroklorür Kimyasal Yapısına Sahip Bileşiklerin Mikrodalga ve Konvansiyonel Yöntem İle Sentezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
70. Kornberg A, Colowick S, Kaplan N. *Methods in Enzymology*. New York, Academic Press, 1955: 323.

71. Pati HN, Das U, Sakagami H, Kawase M, Chu Q, Wang Q, Stables JP, Dimmock JR. 1, 3-Diaryl-2-propenones and 2-benzylidene-1, 3-indandiones: A quest for compounds displaying greater toxicity to neoplasms than normal cells. *Archiv der Pharmazie*, 2010, 343: 535-541.
72. Kantoh K, Ono M, Nakamura Y, Nakamura Y, Hashimoto K, Sakagami H, Wakabayashi H. Hormetic and anti-radiation effects of tropolone-related compounds. *In Vivo*, 2010, 24: 843-851.
73. Gul HI, Ojanen T, Hänninen O. Antifungal evaluation of bis Mannich bases derived from acetophenones and their corresponding piperidinols and stability studies. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 25: 1307-1310.
74. Antony R, Godwin EP, Ji-Won C, Sunil S, Stephen JB. Conjugated biological molecules, their preparation, and novel reagents for conjugating biological molecules, WO2005007197, 2005.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

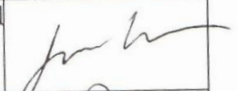

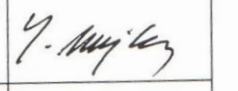
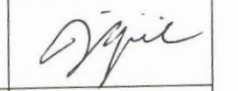
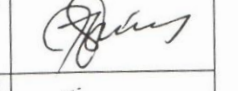
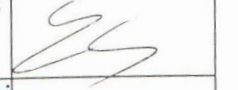
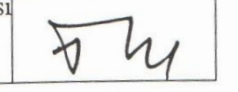
| <b>KİŞİSEL BİLGİLER</b> |  |
|-------------------------|--|
| Adı Soyadı              | : Elif ÜNLÜER  |
| Doğum tarihi            | : 01.08.1985   |
| Doğum yeri              | : ERZURUM  |
| Medeni hali             | : Bekar  |
| Uyruğu                  | : T.C.   |
| Adres                   | : Atatürk Üniversitesi Eczacılık<br>Fakültesi, Farmasötik Kimya<br>Anabilim Dalı, 25240<br>ERZURUM |
| Tel                     | : 0533 422 47 88   |
| Faks                    | :  |
| E-mail                  | : elifim_02@hotmail.com  |
| <b>EĞİTİM</b>           |  |
| Lise                    | : Necip Fazıl Kısakürek Lisesi<br>(2002)   |
| Lisans                  | : Kocaeli Üniversitesi Fen<br>Edebiyat Fakültesi (2009)  |
| Yüksek lisans           | : Atatürk Üniversitesi Eczacılık<br>Fakültesi, Farmasötik Kimya<br>Anabilim Dalı (2012)            |

## EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

### “2012. 2. 49 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 08.05.2012

2/49 - Enstitümüz Eczacılık Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Elif ÜNLÜER' in “1- Aril-3-(2-Hidroksietiltiyo)-1- Propanonların Sentezi Sitotoksite Selektivite İndeksi ve Olası Etki Mekanizmasının Araştırılması” 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             | <b>Katılmadı</b>  |
| 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             | <b>Katılmadı</b>  |
| Doç. Dr.Abdulkadir YILDIRIM | Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi             |  |
| Yrd.Doç.Dr.Engin SAYGIN     | Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi             |  |
| Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN     | Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi ve Raportör |  |