

**1-ARİL-2-(N-METİLPİPERAZİNOMETİL)
-2-PROPEN-1-ON KİMYASAL YAPISINA SAHİP
BİLEŞİKLERİN KLASİK MANNİCH REAKSİYONU İLE
SENTEZİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Mehtap TUĞRAK

**Yüksek Lisans Tezi
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
Prof. Dr. H. İnci GÜL**

2011

Her hakkı saklıdır

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

**1-ARİL-2-(N-METİLPİPERAZİNOMETİL)-2-PROPEN-1-ON
KİMYASAL YAPISINA SAHİP BİLEŞİKLERİN KLASİK
MANNICH REAKSİYONU İLE SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mehtap TUĞRAK

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

**Yüksek Lisans Tezi
Erzurum – 2011**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

1-ARİL-2-(N-METİLPİPERAZİNOMETİL)-2-PROPEN-1-ON
KİMYASAL YAPISINA SAHİP BİLEŞİKLERİN KLASİK
MANNİCH REAKSİYONU İLE SENTEZİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehtap TUĞRAK

Tezin enstitüye verildiği tarih : 11.01.2011

Tezin sözlü savunma tarihi : 18.01.2011

Tez danışmanı : Prof. Dr. H. İnci GÜL

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yunus KARA

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Yücel KADIOĞLU

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Zuhale GÜVENALP

Jüri Üyesi : Yrd.Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU

Enstitü Müdürü : Prof. Dr. İsmail CEYLAN

Ocak 2011

ERZURUM

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SPEKTRUMLAR DİZİNİ	X
ÖZGEÇMİŞ	XII
ÖZET	XIII
SUMMARY	XV
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser	3
2.2. Kanserın Gelişimi.....	4
2.3. Kanserın Belirtileri.....	4
2.4. Hücre.....	5
2.4.1. Organizma çeşitleri	5
2.5. Hücre Döngüsü.....	7
2.5.1. Hücre döngüsünün kontrol noktaları.....	9
2.6. Kanserde Tedavi Yöntemleri	11
2.6.1. Kemoterapide kullanılan ilaçların sınıflandırılması.....	12
2.6.1.1 Alkilleyici ajanlar.....	12
2.6.1.2. Antimetabolitler	18
2.6.1.3. Sitotoksik antibiyotikler	19
2.6.1.4. Vinka alkaloidleri ve bitkisel kaynaklı diğer ilaçlar	20
2.6.1.5. Hormonlar ve Hormon Antagonistleri	21
2.6.1.6. Diğer Kemoterapötik İlaçlar	22
2.7. Mannich Bazları ve Biyolojik Etkileri	24
2.8. α,β -Doymamış Ketonlar.....	28
2.9. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katımı	29
2.9.1. Michael katılma tepkimesinin mekanizması.....	30

2.10. İlaç Tasarlama da Fizikokimyasal Özelliklerin Önemi.....	31
2.10.1. Hammett korelasyonu.....	31
2.10.2. Hansch analizi.....	33
2.10.3. Dağılım (Partisyon) katsayısı (P)	34
2.10.4. İyonlaşma sabiti (Ka).....	35
2.11. İlaç Tasarlama da Topliss Yaklaşımı	37
2.12. Sentez Tepkimeleri.....	39
2.12.1. Mannich tepkimesi	39
2.12.2. Mannich reaktifi	42
3. PLANLANAN ÇALIŞMA ve ÖNEMİ.....	44
3.1. Çalışmanın Amacı.....	45
4. DENEYSEL BÖLÜM.....	47
4.1. Kimyasallar ve Yöntemler	47
4.2. Sentez ve Spektral Bulgular	48
4.2.1. 1-Aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür tipi (Şekil 19) Mannich bazlarının genel sentez yöntemi	48
4.2.1.1. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	50
4.2.1.2. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	54
4.2.1.3. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	58
4.2.1.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	61
4.2.1.5. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	64
4.2.1.6. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	67
4.2.1.7. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	71
4.2.1.8. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2- propen-1-on dihidroklorür	74

4.2.1.9. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür	77
4.3. Sitotoksik Aktivite Testi	80
5. BULGULAR.....	82
6. TARTIŞMA ve SONUÇ	83
6.1 Sentez ve Spektral Analizler	83
6.2. Sentezlenen Mannich Bazlarının HEP-3B Hücre Hattına Karşı Sitotoksik Aktiviteleri	86
7. KAYNAKLAR	88

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı çok değerli bilgi ve tecrübeleri ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. H. İnci GÜL'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Atatürk Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'na Proje No: (2010/166), tezimdeki NMR spektrumları için Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesine, TOF-MS spektrumları için Teoman Çakal'a (Likrom A.Ş), sitotoksik aktivite testi için Neşe Başak'a (Yeditepe Üniversitesi) ve Prof. Dr. Mustafa GÜL'e (Atatürk Üniversitesi), yardımlarına ihtiyaç duyduğumda bunu esirgemeyen Dr. Ebru METE'ye (Atatürk Üniversitesi), çalışmalarım sırasında ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim aileme ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μM	: Mikromolar
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat Derece
$^{13}\text{C NMR}$: ^{13}C Nükleer Manyetik Rezanans
$^1\text{H NMR}$: ^1H Nükleer Manyetik Rezonans
5 FU	: Fluorourasil
ATP	: Adenozin Tri Fosfat
br s	: Broad Singlet
CD_3OD	: Döterometanol
CH_3OH	: Metanol
CHCl_3	: Kloroform
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ER	: Endoplazmik Retikulum
EtOH	: Etanol
G	: Gram
G_0	: Gap_0
G_1	: Gap_1
G_2	: Gap_2
HCl	: Hidroklorik Asit
HEP – 3B	: İnsan Karaciğer Kanseri Hücreleri
Hz	: Hertz
J	: Etkileşme Sabiti
LC_{50}	: %50 İnhibe Edici Konsantrasyon
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi

VI

LHRH	: Luteinleyici Hormon Saliverici Hormon
M	: Mitozis
M. A.	: Molekül Ağırlığı
μ l	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mmol	:Milimol
MTS	: 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)
P	: Partisyon Katsayısı
PBS	: Fosfat Tamponu Solüsyonu
ppm	: Milyonda Bir Kısım
QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri
RNA	: Ribonükleik Asit
TC	: Türkiye Cumhuriyeti

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Benin ve Malin Hücrelerin Farkları.....	3
Tablo 2. Sentezlenen Bileşiklerin Deneysel Verileri	49
Tablo 3. Bileşiklerin (1-9) Sitotoksosite Sonuçları.....	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Normal Memeli Hücre Gelişiminin Beş Aşaması	7
Şekil 2. Alkilleyici İlaçlar	14
Şekil 3. Mekloretaminin Etki Mekanizması	17
Şekil 4. Örnek Bir Mannich Bazı	24
Şekil 5. Mannich Bazlarında N ⁺ -- O ⁻ Etkileşimi veya H Bağı Oluşumu.....	25
Şekil 6. α,β-Doymamış Keton	28
Şekil 7. Michael Katılma Tepkimesinde Rezonans Yapı	29
Şekil 8. Dissosiyeye Tiyollerin Michael Katılma Mekanizması	30
Şekil 9. Nondissosiyeye Tiyollerin Michael Katılma Mekanizması	30
Şekil 10. İlaç Tasarlama Topliss Yaklaşımını Açıklayan Karar Ağacı	38
Şekil 11. Monoaminometilasyon Sonucu Oluşan Mono-Mannich Bazı	39
Şekil 12. Diaminometilasyon Sonucu Oluşan Bis-Mannich Bazı	39
Şekil 13. Halkalaşmış Mannich Bazı.....	40
Şekil 14. Sikloheksanonun Asit Katalizli Aminometilleme Tepkime Mekanizması.....	40
Şekil 15. Sikloheksanonun Baz Katalizli Aminometilleme Tepkime Mekanizması	41
Şekil 16. Mannich Reaktifinin Oluşumuna Ait Tepkime Mekanizması	43
Şekil 17. Konjuge Stiril Keton	45
Şekil 18. Mannich Bazı	45
Şekil 19. 1-Aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür (1-9)	49
Şekil 20. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür.....	50
Şekil 21. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	54
Şekil 22. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	58
Şekil 23. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	61
Şekil 24. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	64

Şekil 25. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	67
Şekil 26. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	71
Şekil 27. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür	74
Şekil 28. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür	77

SPEKTRUMLAR DİZİNİ

Spektrum No 1. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	51
Spektrum No 2. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹³ C-NMR spektrumu	52
Spektrum No 3a. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	52
Spektrum No 3b. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	53
Spektrum No 4. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	55
Spektrum No 5. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹³ C-NMR spektrumu	56
Spektrum No 6a. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	56
Spektrum No 6b. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	57
Spektrum No 7. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	59
Spektrum No 8a. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	59
Spektrum No 8b. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	60
Spektrum No 9. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	62
Spektrum No 10a. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	62
Spektrum No 10b. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu	63
Spektrum No 11. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	65

Spektrum No 12a. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	65
Spektrum No 12b. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	66
Spektrum No 13. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	68
Spektrum No 14. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹³ C-NMR spektrumu	69
Spektrum No 15a. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	69
Spektrum No 15b. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	70
Spektrum No 16. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	72
Spektrum No 17a. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	72
Spektrum No 17b. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	73
Spektrum No 18: 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	75
Spektrum No 19a. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	75
Spektrum No 19b. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	76
Spektrum No 20: 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹ H-NMR spektrumu	78
Spektrum No 21a. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	78
Spektrum No 21b. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu.....	79

ÖZGEÇMİŞ

1 Ocak 1982 yılında İskenderun'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi çeşitli şehirlerde tamamladıktan sonra, lise öğrenimimi Kars Selim Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında girdiğim Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden 2004 yılında mezun oldum. Aynı yıl girdiğim Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Tezsiz Yüksek Lisans programını 2006 yılında tamamlayarak 2008 yılında Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Programında yüksek lisans eğitimime başladım. 2009 yılından beri Eczacılık Fakültesinde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

ÖZET

1-Aril-2-(N-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on kimyasal yapısına sahip bileşiklerin klasik Mannich reaksiyonu ile sentezi ve biyolojik aktivitesinin araştırılması

Laboratuvarımız yeni sitotoksik ve antikanser etkili bileşiklerin tasarım, sentez ve biyolojik aktivitelerinin araştırılmasına yoğunlaşmıştır.

α,β -Doymamış ketonların ve onların Mannich bazlarının sitotoksik ve antikanser etkileri bilinmektedir. Bu tip bileşikler tiyol alkilatörü olarak etki etmektedir. Aromatik halkadaki farklı elektronik etkiye sahip süstitüentlerin biyolojik aktiviteyi yönlendirdiği bilindiğinden fenil halkasının *p*-konumunda farklı Hammett değerine sahip süstitüentlerin bulunması planlanmış ve sentezlenmiştir.

Bu tez kapsamında tasarlanan bileşikler 1-aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür kimyasal yapısına sahiptir. Aril halkası, C₆H₅ (1), 4-CH₃C₆H₄ (2), 4-CH₃OC₆H₄ (3), 4-ClC₆H₄ (4), 4-BrC₆H₄ (5), 4-FC₆H₄ (6), 4-NO₂C₆H₄ (7), 2,4-Cl₂C₆H₃ (8), C₄H₃S (2-il) (9) olarak değiştirilmiştir. Bileşiklerin sitotoksitesi karaciğer kanseri hücre hattına (HEP-3B) karşı değerlendirilmiştir. Bunun 2 sebebi vardır:

- i. İlaçların metabolizmasında karaciğer önemli bir organdır.
- ii. Kanser kaynaklı ölümlerin yaklaşık %20'si karaciğer kanserinden kaynaklanır.

HEP-3B Karaciğer kanseri hücre hattına karşı bileşiklerin sitotoksiteleri değerlendirildiğinde nonsüstitüe bileşik 1 (1.51 kat), *p*-metilli bileşik 2 (2.99 kat), *p*-

metoksi türevi bileşik 3 (1.80 kat), *p*-klorlu türevi bileşik 4 (1.34) ve aromatik grup olarak tiyofen halkası içeren bileşik 9 (1.77 kat) 5-FU'den daha güçlü sitotoksite göstermiştir ve daha sonraki çalışmalar için bu bileşikler yeni bileşik tasarımında model olabilirler.

Anahtar Kelimeler: Mannich Bazı, Sitotoksik Aktivite, Mannich Reaksiyonu, HEP-3B

SUMMARY

The research on the biological activities and synthesis of the compounds with chemical structure of 1-aryl-2-(N-methylpiperazinomethyl)-2-propen-1-on using classical Mannich reaction

Our laboratory has concentrated on to design, synthesize and evaluation of the biological activities of new cytotoxic and anticancer compounds. It is known that α,β unsaturated ketones and their Mannich bases have cytotoxic and anticancer effects. These type compounds act as thiol alkylators. Since it is known that the substituents, which have different electronic effects on aromatic ring affect biological activity, different substituents has been planned to substitute *p*-position of the phenyl ring.

In this thesis, the designed compounds were 1-aryl-2-(N-methylpiperazinomethyl)-2-propen-1-on. Aryl ring has been changed as C_6H_5 (1), 4- $CH_3C_6H_4$ (2), 4- $CH_3OC_6H_4$ (3), 4- ClC_6H_4 (4), 4- BrC_6H_4 (5), 4- FC_6H_4 (6), 4- $NO_2C_6H_4$ (7), 2,4- $Cl_2C_6H_3$ (8) and C_4H_3S (2-il) (9).

The cytotoxicity of synthesized compounds have been evaluated against human hepatoma cell lines. There were two reasons for this:

- i. Liver acts an important role in drug metabolism.
- ii. Approximately %20 of the deaths due to cancer result from liver cancers.

When the cytotoxicity of compounds were evaluated against HEP-3B human hepatoma cancer cells, nonsubstituted compound 1 (1.51 times), *p*- CH_3 compound 2 (2.99 times), *p*- CH_3O compound 3 (1.80 times), *p*- Cl compound 4 (1.34 times) and compound 9 with thiophene ring as an aromatic group (1.77 times) had shown more potent cytotoxic

activity than 5-FU. These compounds can serve as models to develop new cytotoxic and anticancer compounds in future studies.

Key Words: Mannich Bases, Cytotoxic Activity, Mannich Reactions, HEP-3B

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bir hastalığın insan sağlığı yönünden önemini belirleyen 2 önemli unsur vardır: Hastalığın görülme sıklığı ve neden olduğu ölümlerin çokluğu. Kansere hastalığı da toplumda sık rastlanan, ciddi oranda ölüme neden olan hastalıkların başında gelmektedir. Kansere, ölüme yol açan hastalıklar arasında dünyanın birçok ülkesinde ve Türkiye’de kalp damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır¹. Türk Kansere Araştırma Kurumu, Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Ankara Ticaret Odası’nın birlikte hazırladığı “Kansere Yükü 2006” raporuna göre, her yıl dünyada 11 milyon, Türkiye’de ise 150 bin kişi kansere yakalanmaktadır. 2020 Yılında bu sayıların %50 oranında artacağı öngörülmektedir. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de kansere, ölüm nedenleri arasında %42 oranı ile ilk sırada olan kalp hastalıklarından sonra %12,9 ile ikinci sırada yer almaktadır².

Kansere tedavisinde en etkili yöntem kemoterapidir. Ancak kemoterapide kullanılacak etken madde geliştirmek hayli güç bir iştir. Son 50 yıl zarfında yaklaşık 500 bin doğal ve sentetik bileşik antikansere aktivite için test edilmiştir. Bu maddelerin sadece 25 tanesi bugün ilaç olarak kullanılabilir durumdadır. Bu durum, kansere tedavisinde kullanılacak ilaç geliştirme çalışmalarının zorluğunu açık olarak göstermektedir. Kemoterapide kullanılan ilaçların hastada ciddi yan etkiler oluşturması kansere hastalığının tedavisinde karşılaşılan diğer önemli sorundur. Çünkü tedavide kullanılan ilaçlar sistemik etki göstererek tüm kansere hücrelerine sitotoksik etki yaparken, kemik iliği, ağız, saç folikülleri gibi hızla üreyen bazı normal hücreleri de yok eder. Bu durumda enfeksiyona yatkınlık, ağızda yara, saç dökülmesi, bulantı, kusma ve iç organlarda hasar gibi birçok olumsuz yan etki ortaya çıkar. Yan etkileri bu

derece fazla ve ciddi olan tedavi programının oldukça uzun süre devam etmesi de ayrıca olumsuz bir durum oluşturmaktadır^{3,4}.

Bu noktada, kanser tedavisinde seçici olarak kanser hücrelerine sitotoksik etkili, dolayısıyla daha az yan etkiye neden olacak ve tedavi süresini kısaltacak yeni bileşiklerin geliştirilmesine gereksinim vardır. Bu ihtiyaca yanıt verebilecek yeni türevlerin sentezlenmesi ve aktivitelerinin saptanması çalışmamızın temel amacını oluşturmaktadır. Bu amaçla, yapılan literatür taramalarında akrilofenon türevi Mannich bazlarının sitotoksiteleri ile ilgili literatürde sınırlı sayıda bileşik yapılmış, ancak bu çalışmalarda sistemli bir araştırma yapılmadığı saptanmıştır⁵.

Bu tez kapsamında alkilleyici ajanlar olarak tasarlanan ve sitotoksik etkiler beklenen 1-aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür kimyasal yapısına Mannich bazı bileşiklerinin kimyasal bir sistemlikle sentezlenmesi ve sitotoksitelerinin referans bileşik 5-fluorourasille karşılaştırmalı olarak insan karaciğer kanseri HEP-3B hücre hatlarına karşı araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser vücuttaki hücrelerin denetimden çıkıp vücudun diğer bölümlerinden bağımsız ve kontrolsüz bir biçimde büyümeye başladığı bir hastalıktır. Kalp damar sistemi hastalıklarından sonra ikinci sıradaki ölüm nedenidir². Günümüzde kanser kelimesi malin neoplazma karakteri taşıyan bir biyolojik işlemi belirtmek amacıyla kullanılmaktadır. Neoplazmanın benin ve malin olmak üzere iki davranış biçimi vardır. Bu dokuların ayırıcı özellikleri² Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 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 hücrelerin aniden çoğalmasının birçok karmaşık nedeni vardır ve bunlar henüz tam anlamıyla anlaşılammıştır. Bu durumun, kişinin ruhsal durumu ve beslenmesi gibi iç faktörlerle, çevre kirliliği gibi dış koşulların bileşimi sonucu ortaya çıktığı görülmektedir.

2.2. Kanserin Gelişimi

Kanser üç aşamada gelişir⁶:

1. Önce hastalıklı hücreler büyümeye başlar, çevrelerindeki dokulara nüfuz ederek vücudun belli bir bölgesinde yerleşir. Kanserin ilk başladığı bölgedeki bu evresine primer kanser adı verilir.

2. Daha sonra vücudun bağışıklık, ya da savunma sisteminin bir parçası olan en yakın bezlerden (lenf nodülü) birine sıçrayarak vücudun diğer kısımlarına doğru yola çıkarlar (metastaz).

3. Hastalıklı hücreler daha sonra yerleştikleri bu ikinci bölgede tekrar büyümeye başlar ve çoğu kez çevrelerini büyük bir süratle istila ederler. Buna kanserin ikinci evresi denir.

2.3. Kanserin Belirtileri

Erken tanı, bütün kanser türleri için hayati önem taşır. Kanserin en yaygın görülen belirtilerini şöyle sıralayabiliriz⁶:

- Memede, testislerde veya vücudun herhangi bir yerinde şişlik veya doku sertleşmesi
- İyileşmeyen bir yara veya lezyon
- Geçmeyen ses kısıklığı veya öksürükle birlikte kan gelmesi
- Sürekli karın ağrısı, karın bölgesinde büyük yumrular veya, yutkunma zorluğu
- Ben veya siğillerde belirgin bir değişiklik
- Olağan dışı kanama veya akıntı

- Beklenmedik kilo kaybı veya iştahsızlık
- Aşırı yorgunluk, bitkinlik veya keyifsizlik
- Sürekli ağrı (kanser her zaman ağrıya yol açmayabilir)
- Ağrı yapmadığı halde şişen ve küçülmeyen salgı bezleri

2.4. Hücre

Hücre, hem tek bir hücreden oluşan bakteri ve virüslerde hem de insan gibi çok hücreden oluşan organizmalarda başlıca yaşam ünitesidir. Her hücre yapı maddelerinin hücre içine alınması ve bu maddelerin enerjiye dönüşümü, replikasyon yeteneği gibi hususlarda farklı özelliklere sahiptir. Hücreler, görevlerini yerine getirmede gereksinim duyacağı bilgileri de bünyelerinde taşır. İnsan vücudu, her birinin replikasyon yeteneği farklı yaklaşık on trilyon hücreden oluşmaktadır. Bu yetenek farklılığı yaşamın temel bir özelliği olarak değerlendirilir⁷.

2.4.1. Organizma Çeşitleri

Sahip oldukları hücrelere göre organizmalar iki kategoride incelenebilir⁷:

1. Prokaryotlar,
2. Ökaryotlar.

1. **Prokaryotlar:** Nükleusu çevreleyen bir membran bu organizmalarda mevcut değildir. En iyi bilinen prokaryotik organizmalar bakterilerdir. Bir hücre zarfı ve içerisinde sitoplazma, hücre enzimleri, aminoasitler, glukoz molekülleri, ATP ve DNA bulunur⁷.

2. **Ökaryotlar:** Hücreleri organellerden meydana gelen, çok hücreli organizmalardır. Bu organellerin her biri vücuttaki organlara benzer şekilde kendi yapısı

ve spesifik fonksiyonuna sahiptir. Bu organellerden biri de nükleustur ve üç ana yapıdan oluşur⁷:

a) Nükleolus: Görevi ribozomları üretmek olan nükleolus nükleusun en belirgin bölümüdür.

b) Nüklear zarf: Çift tabakalı bir membran olup nükleusu sitoplazmadan ve hasar oluşturabilecek moleküllerden ayırır ve korur.

c) Kromatin: DNA/Protein kompleksidir ve genleri içerir⁷.

Diğer önemli hücre organelleri ise şunlardır⁷:

1) Hücre Membranı: Lipit moleküllerinden oluşmuş çift tabakalı bir yapıya sahiptir. Hücreyi destekler ve korur. Yapı maddelerinin hücre içine girmesine ve artıkların dışarıya çıkmasına izin verir. Şekil değiştirme özelliğine sahiptir. Dış çevreden gelen sinyalleri alır.

2) Mitokondri: Bu organelde enerji üretimi yapılır. Şeker moleküllerini oksijen varlığında ATP şeklinde enerji üretmek için parçalar.

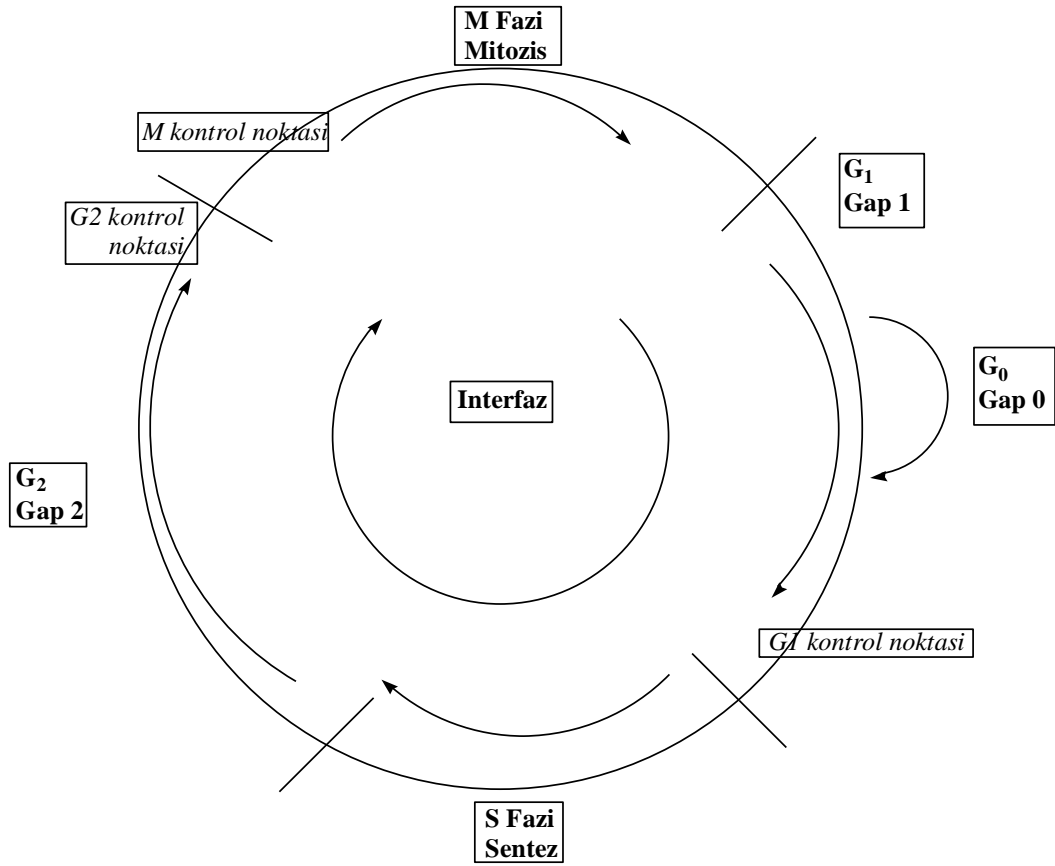
3) Düz/Pürtüklü Endoplazmik Retikulum (ER): Nükleusun dış membranı ile bağlantılı olan, birbirine bağlı tübüler tünellerden oluşan organellerdir. Pürtüklü ER proteinlerin ribozomlarda sentezini sağlar; düz ER ise steroid üretim yeridir.

4) Lizozomlar: Büyük molekülleri parçalamak için kullanılan birçok sindirim enzimini içeren organellerdir.

5) Golgi Aparatı: Protein ve yağların modifikasyonunu sağlar. Örneğin, şeker moleküllerinden glikoproteinleri oluşturur⁷.

2.5. Hücre Döngüsü

Hücre hayatımızın temel yapıtaşıdır. Vücudumuz milyonlarca hücreden oluşur. Bu hücreler büyür, ikiye bölünerek çoğalır ve sonra ya ölür ya da yeniden büyüüp çoğalmaya hazır hale gelinceye kadar bekler. Buna hücre döngüsü denir. Dakikada 300 milyon hücre ölür ve yerini derhal yenileri alır. Hücre döngüsü, birbirini izleyen iki hücre bölünmesi arasındaki zaman periyodunu tanımlayan bir terimdir⁸. Ökaryotik hücreler, birbirinin aynı iki hücreye bölünerek çoğalır. Oluşan her hücre ana hücrenin DNA'sının tam kopyasını taşır. Böylece, çok hücreli organizmalar zarar görmüş veya yıpranmış hücreleri yenileyebilir⁷.



Şekil 1. Normal Memeli Hücre Gelişiminin Beş Aşaması

Hücre döngüsünün fazları şunlardır⁷:

İnterfaz: Hücre döngüsünün en uzun periyodudur. Bu dönemde hücre büyümesi görülür. Ayrıca DNA reduplikasyonu, sentriollerin bölünmesi ve protein sentezi gerçekleşir. İnterfaz genellikle yaklaşık 12-24 saat sürer. Üç aşamada incelenebilir: Gap 1, Sentez ve Gap 2 fazı.

(G₁): DNA sentezinin hazırlanması periyodudur⁸. Hücre boyutunda artış olur; RNA üretimi ve protein sentezi gerçekleşir. Bu fazda önemli bir hücre döngüsü kontrol mekanizması vardır.

Sentez fazı (S fazı): Bu fazda DNA replikasyona uğrar. Böylece üretilen iki hücre, mitoz fazında ana hücreden elde edilen DNA'nın bir kopyasını taşıyacaktır.

(G₂): DNA sentezi ve mitoz arasındaki periyottur. Hücre büyüme ve yeni proteinler üretmeyi sürdürür. Bu fazın sonunda bulunan G₂/M kontrol noktası, hücrenin, mitoz fazına girişini ve bölünmesini belirler.

Mitoz (M) Fazı: Bu fazda hücre büyümesi ve protein üretimi durur. İki benzer yavru hücrenin bölünerek oluşması aşaması başlar. Mitoz kısa bir fazdır; sadece 1-2 saat sürer. Bu fazdaki temel olaylar, kromozomların kümeleşmesi, mitotik iğın oluşumu, kromozomların iğe bağlanması, kardeş kromatidlerin ayrılması, kromozomların ayrılması ile birlikte yavru nükleusların oluşumudur. Mitoz fazının aşamaları şunlardır:

Profaz: Bu fazın başlangıcında nüklear membran bozulur ve nükleustaki kromatin kromozomlara kümeleştirilir. Her bir kromozom, genetik olarak özdeş iki kromatidten meydana gelir. Hücrenin biçiminden sorumlu olan mikrotübüller parçalara ayrılır ve mikrotübüllerin yapı taşları mitotik iği oluşturmak için kullanılır.

Prometafaz: Nüklear zarf bu fazda bozular; artık fark edilebilir bir nükleus yoktur. Sentiollerden mitotik iğ iplikleri uzar. Protein yığınları kromozomlarda lokalize olur.

Metafaz: İğ iplikleri tarafından uygulanan basınç, hücrenin merkezindeki bir düzlemde bütün kromozomların sıralanmasını sağlar.

Anafaz: İğ iplikleri kısalır; kromozomlar merkezi düzlemden hücre kutuplarına doğru hareket etmeye başlar.

Telofaz: Kromozomlar hücre kutuplarına ulaşır ve onları kutuplara çeken iğ iplikleri kaybolur. Nüklear zarf, her hücrenin sonunda bulunan kümelerin çevresinde yeniden oluşur, böylece yeni nükleuslar meydana gelir.

Sitokinezis: Mikrotübüller, interfaza dönüş için yeni bir hücre iskeletini yeniden organize etmeye başlar. Hücre döngüsünün sitokinetik fazdan çıkışı, M fazında ortaya çıkan çeşitli selektif proteinlerin proteolizine bağlıdır.

Mitoz sonucu oluşan hücreler diploid olarak adlandırılır; çünkü bu hücreler iki homolog kromozom dizisine sahiptir. Hücrelerin diğer bir bölünme şekli mayoz bölünme olup gametlerin oluşumu sırasında sadece üreme hücrelerinde görülür.

2.5.1. Hücre Döngüsünün Kontrol Noktaları

Hücre döngüsü sürecine aracılık eden gen ürünlerinin değişikliğe uğraması mümkündür. Bu durum, yeni bir fonksiyon kazanımı ve bu gen ürünlerinin onkogenlere dönüşmesine yol açabilir. Bu yüzden, hücre döngüsünün farklı aşamalarında kontrol noktaları vardır. Doğruluğunun tehlikeye düşmesi durumunda bu kontrol noktalarında sürecin durdurulması mümkün olabilir. Bu kontrol noktaları şunlardır⁸:

G₁ Kontrol Noktası: Geç G₁ fazında bulunan kritik bir kontrol noktasıdır. Bu kontrol noktasında S fazına girme ve G₀ fazına geri dönme konusunda bir karar verilir. G₁ fazında hasarlı DNA'ya sahip hücreleri durduran bu kontrol noktası için p53 proteini gereklidir. Bu protein, G₁ fazında hücre döngüsünün durdurulmasını indükleyebilir ve hücre döngüsü kontrolünde en kritik kontrol noktalarından birini oluşturur.

Diğer hücre döngüsü proteinlerinin aksine, p53 proteini, normal hücrelerde çok düşük düzeyde bulunur; çünkü son derece kararsızdır ve hızla degradasyona uğrar. UV, ısı veya hipoksi ile oluşan DNA hasarı, kinazların aktivasyonuna neden olur. Bu durum, p53 proteininin stabilizasyonu ve konsantrasyonunda belirgin bir artışa yol açar.

S Kontrol Noktası: Bu kontrol noktasının aktivasyonuna neden olan başlıca faktör radyasyondur.

G₂/M Kontrol Noktası: DNA hasarı G₂/M kontrol noktası sınırında veya metafazda hücre döngüsünün durmasına yol açar. UV ışığı ile alternatif G₂/M kontrol noktası yolu indüklenir.

İğ Toplanma Kontrol Noktası (Mitotik Kontrol Noktası): Metafaz iği üzerinde kromozomların sıralanması anafazın başlangıcından önce kontrol edilir. Mitotik kontrol noktası kromozomların oryantasyonunu belirler. Tüm kromatid çiftlerinin mitotik iğe bağlanmasını kontrol eder. İğ ipliklerinin herhangi bir kusuru olması durumunda metafaz aşamasında hücre döngüsü durur. Genomik stabilite üzerinde kromatid ayrımının etkisi ile uyumlu olarak iğ kontrol noktası proteinlerinin birçoğu DNA onarımında da rol oynar.

2.6. Kanserde Tedavi Yöntemleri

Kanser tedavisinin amacı, hastalığı tamamen tedavi etmek ve hastayı hastalıktan kurtarmaktır. Bu ideal tedavi ancak tüm malign hücrelerin temizlenmesi ile mümkün olacaktır. Kanser tedavisi hastalığın evresine, metastaz olup olmadığına ve hastanın performans durumuna göre belirlenmelidir³. Kanser tedavisinde uygulanan 3 temel yöntem vardır: Cerrahi tedavi, radyasyon tedavisi ve kemoterapi.

1-Cerrahi tedavi: Kanser tedavisinde kemoterapi ve radyoterapi kullanılmaya başlamadan önce cerrahi tedavi tek tedavi yöntemi idi. Küratif cerrahi, sitoreduktif cerrahi, palyatif cerrahi gibi türleri bulunmaktadır.

2-Radyoterapi: En belirgin etkisi hücre çekirdeğindeki kromozomal yapı üzerine olan radyoterapi, bu yüzyılın başlarında radyumun kanserli hastalarda kullanılmasıyla kliniğe girmiştir. Dış ışın terapisi ve iç radyasyon terapisi olmak üzere iki türü vardır.

3-Kemoterapi: Kemoterapi uygulaması, 1940'lı yıllarda başlamıştır. Farklı ilaçlar geliştirildikçe değişik ilaçların kombine edilerek kullanılması zamanla yaygın hale gelmiştir. Kemoterapi, kanserli hücrelerin çoğalmasını önleyen ve sitotoksik etkiye sahip ve bu hücreleri öldürebilen ilaçlarla uygulanan bir tedavi biçimidir. Sistemik etkiye sahip bir tedavi biçimi olarak kemoterapi tüm kanser hücrelerine etki eder. Bu tedavinin en önemli sorunu, hızla büyüyen kanser hücrelerine sitotoksik etki gösterirken aynı etkiyi kemik iliği, ağız, saç folikülleri gibi hızlı büyüme özelliğine sahip normal hücreler üzerine de göstermesidir^{3,4}. Kemoterapi ilaçları sitotoksik etkilerini proliferatif düzeydeki hücreler üzerinde gösterir. Bazı kemoterapötik ilaçlar hücre döngüsünün belli döneminde bulunan hücreler üzerinde etkilidir. Bu ilaçlara faz spesifik ilaçlar veya faza

özgü ilaçlar adı verilmektedir. Örneğin, Vinka alkaloidleri hücre döngüsünün M fazı^{7,8}, antimetabolit ilaçlar ise S fazı için spesifik etki gösterir. Bazı kemoterapi ilaçları ise hücreler hangi dönemde olursa olsun onları etkileyebilir; bu tür ilaçlar da faz spesifik olmayan veya faza özgü olmayan ilaçlar adını alır. Alkilleyici ilaçlar bu grup ilaçlara örnek olarak gösterilebilir. Bölünme hızı yüksek ve çoğalma aşamasında olan hücreleri fazla olan dokular sitotoksik ilaçlardan daha fazla etkilenmektedir⁹.

2.6.1. Kemoterapide Kullanılan İlaçların Sınıflandırılması

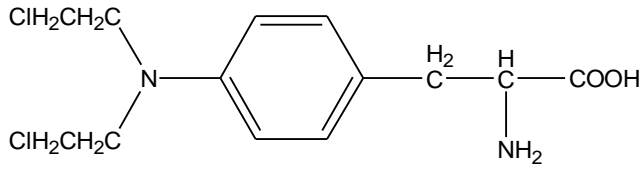
Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar kimyasal yapılarına ve genel etki mekanizmalarına göre 6 grupta incelenebilir¹⁰:

2.6.1.1 Alkilleyici ajanlar

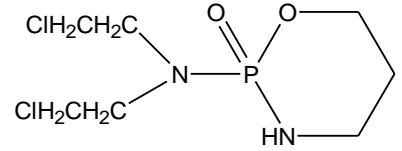
Kanser tedavisinde kullanılan en eski ilaçlardır¹¹. Bu grupta bulunan azot mustard, klinik olarak önemli antitümör aktivite gösteren ve hormonal olmayan ilk kimyasal maddedir. Birinci Dünya Savaşı sırasında kükürtlü hardal göz ve solunum yollarına olan vezikan etkisi nedeniyle kimyasal bir silah olarak kullanılmıştır. Ancak öldürücü etkisinin yanı sıra insan ve deney hayvanlarının hematopoietik ve lenfatik sistemlerinde depresyona neden olduğu görülmüştür. Bu gözlemlerin ışığında araştırmalar yapılmış ve 1946'da yayınlanan çalışmalar, bu tür bileşiklerin tümörlerde özellikle lenfomalarda gerilemeye neden olduğunu bildirmiştir. Böylece azot mustard bileşikleri klinik uygulamaya girmiştir (Mekloreタミン, Mustargen gibi). Daha sonra daha az toksik ve klinik olarak daha etkin azotlu bileşikler ve başka türde alkilleyici ajanlar geliştirilmiştir¹².

Klinikte kullanılan majör alkilleyici ajanlar yapılarında, bis(kloroetil) amin, etilenimin veya nitrozoure süstitüenti taşır. Bis(kloroetil) amin içeren ilaçlar arasında siklofosfamit, mekloremin, melfalan ve klorambusil en çok kullanılan ilaçlardır¹³. Azot mustardlar ve aziridin oluşturan alkilleyiciler ve organoplatin kompleksleri gibi değişik alkilleyici ajanların kimyasal formülleri¹⁴ Şekil 2’de verilmiştir.

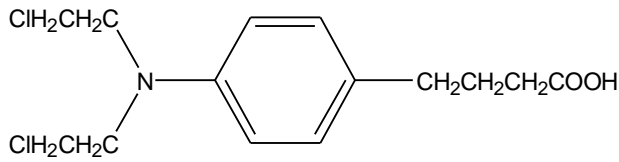
Azot mustardlar ve aziridin oluşturan alkilleyiciler



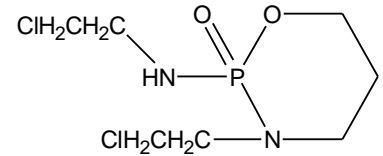
MELFALAN



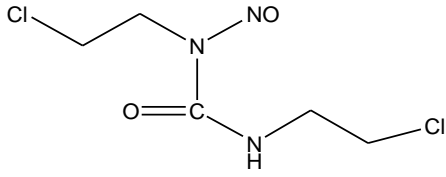
SİKLOFOSFAMİT



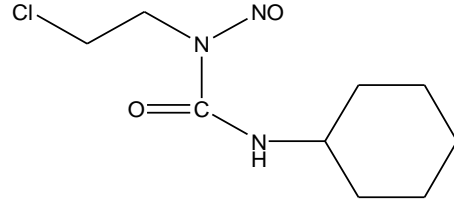
KLORAMBUSİL



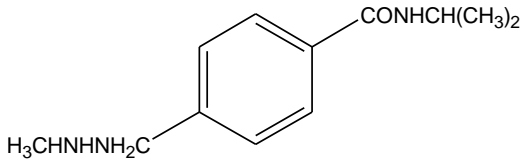
İFOSFAMİT

Nitrozoüreler

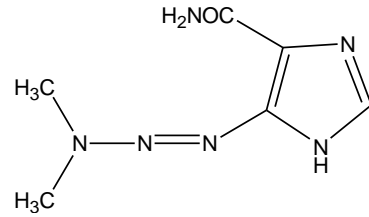
KARMUSTİN



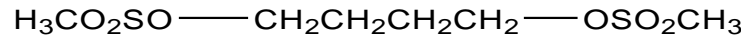
LOMUSTİN

DNA metilleyicileri

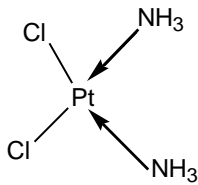
PROKARBAZİN



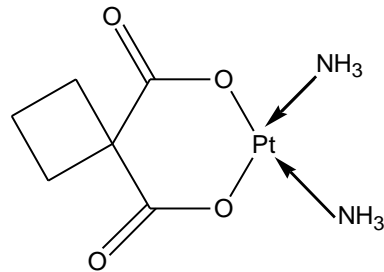
DAKARBAZİN

Muhtelif DNA alkilleyicileri

BUSULFAN

Organoplatin kompleksleri

SİSPLATİN



KARBOPLATİN

Şekil 2. Alkilleyici İlaçlar ¹⁴

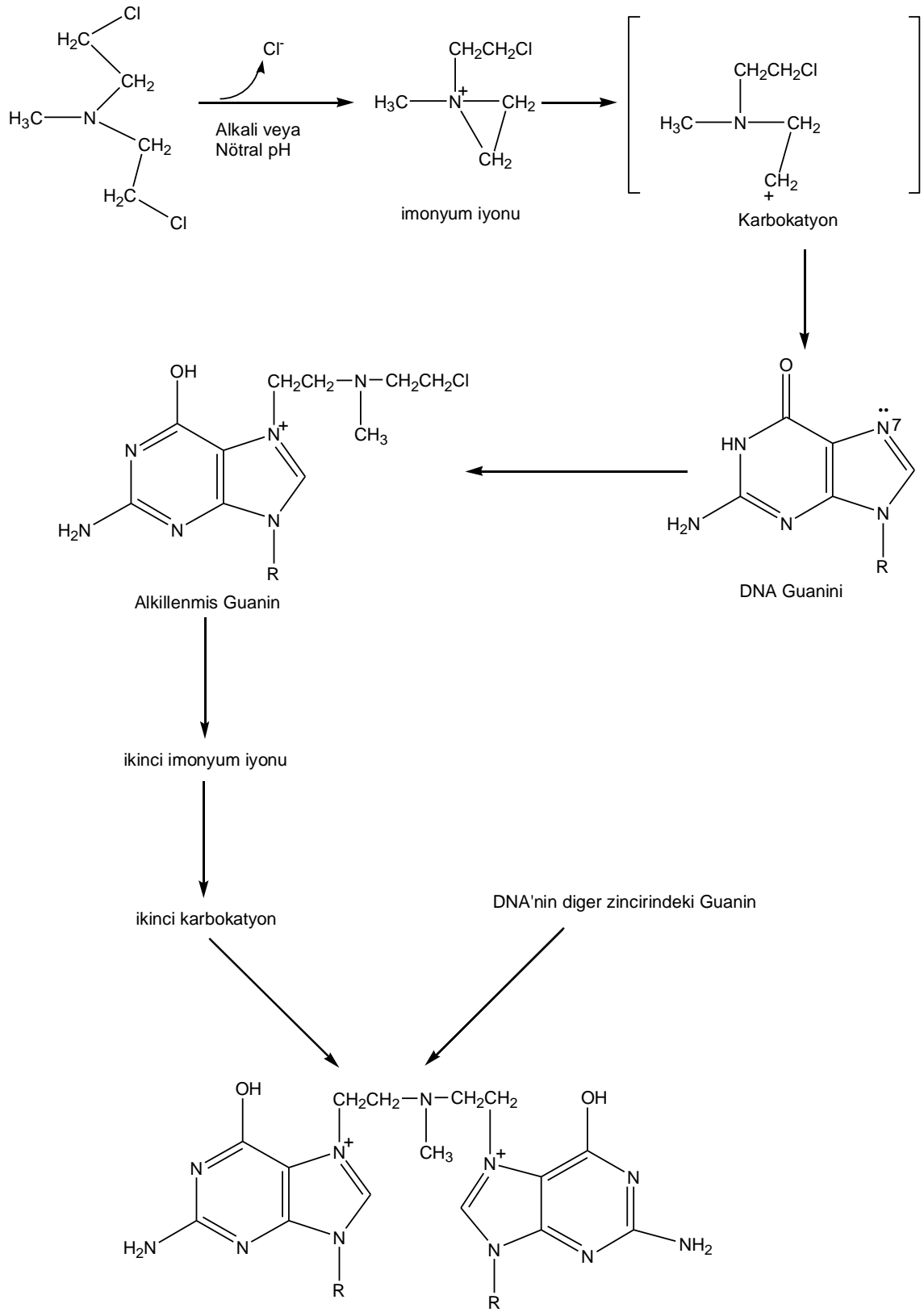
Bu ilaçlar, sitotoksik etkilerini molekülde mevcut alkil gruplarını çeşitli hücresel yapılara transfer etmek suretiyle gösterir. Çekirdek içerisindeki DNA'nın alkilasyonu hücre ölümüne yol açan majör etkileşimleri ortaya çıkartır. Önce etilenimonyum iyonunu oluşturacak şekilde intramoleküler bir siklizasyon gerçekleşir. Bu mekanizma, hücresel bir yapıya alkil grubunun transferini sağlayacak karbonyum iyonunun oluşumu ile sonuçlanır. DNA içerisinde majör alkilasyon yöreni guanin bazının 7 numaralı azotudur. Ayrıca daha az öncelikli olmak üzere adenin bazının 1 ve 3, sitozinin 3 numaralı azot ve guaninin 6 numaralı oksijen atomu da alkilenebilir. Bu etkileşimler, çapraz bağı DNA heliksinin tek bir veya her iki dizisinde gerçekleşebilir. Her iki dizide alkillemeyi gerçekleştiren ilaçlar bifonksiyonel ilaçlardır. Guaninin alkilasyonu yanlış kodlamaya veya guanin kısmının kesilip çıkartılması yoluyla depurinasyon ile sonuçlanabilir.

Diğer bir etki, DNA'nın şeker-fosfat omurgasının bölünmesi vasıtasıyla DNA dizisinin kırılmasıdır. Alkilleyici ajanların sitotoksik etkisi için DNA'nın çapraz bağlanması majör öneme sahiptir ve bu ilaçlara en duyarlı hücreler replikasyonu sağlayan hücrelerdir. Hücreler döngünün geç G_1 ve S fazlarında alkilasyona en duyarlıdır ve blokaj G_2 fazında ortaya çıkar^{7,8,13}.

Alkilleyici ajanlar hücre döngüsüne spesifik ilaçlar değildir. DNA lezyonlarını onarma kapasitesinin artmış olması, hücrenin alkilleyici ajana geçirgenliğinin azalması ve glutatyon üretiminin artışı alkilleyici ajanlara rezistans kazanılmasına neden olabilir¹³. Alkilleyici ajanlar, protein ve enzimleri de alkilleyerek hücre metabolizmasında bozukluk oluşturur. Hücrelerde oluşturdukları bozukluklar, radyoaktif ve X ışınlarının hücrelerde oluşturduğu hasara benzer¹⁵.

Antineoplastik ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında, alkilleyici özellik gösteren farmakofor grupların hormonlar, aminoasitler, nükleik asit bazları veya şeker parçaları gibi çeşitli taşıyıcı gruplara bağlanarak molekülün etki yöresine optimum konsantrasyonda taşınması için tasarım ve sentez çalışmaları devam etmektedir. Ancak bugüne dek yöreye özgü alkilasyon tam anlamıyla başarılamamıştır^{13,16}.

Alkilleyici bir bileşik olan mekloretaminin etki mekanizması (Şekil 3), bu grup ilaçların etki mekanizmalarına bir örnek olması amacıyla aşağıda gösterilmiştir¹⁷.



Şekil 3. Mecloretaminin Etki Mekanizması¹⁷

2.6.1.2. Antimetabolitler

Bu grup ilaçlar, vücutta bulunan vitamin, nükleozit veya aminoasit gibi maddelere yapısal olarak benzerlik gösteren ilaçlardır¹⁸. Antimetabolitler, DNA, RNA, proteinler ve diğer temel hücre öğelerinin sentez aşamalarının çeşitli basamaklarında rol oynayan doğal metabolizma ürünlerinin yerine geçme özelliği gösterir. Bu maddeleri kullanan enzimler üzerinde, bağlanma noktalarına karşı onlarla yarışarak, onların bağlanmalarını inhibe ederler¹⁵. Nükleik asitlerin polimerizasyonunu ve polimeraz enzimlerinin aktivitelerini durdurarak tümör inhibisyonu gösterirler¹⁵. Çoğu antimetabolit ilaç, faza özgü etki gösterir ve hücre döngüsünün S fazı sırasında aktiftir^{7,18}. Bu grup ilaçlar, kanser hücresinin DNA üretimi ile normal hücrenin DNA üretimini ayıramadıkları için etkileri seçimli değildir. Çok toksik ilaçlardır ve bu nedenle de kullanımları sınırlıdır^{11,15}. Başlıca antimetabolit ilaçlar şunlardır:

-Metotreksat: Folik asit, vücutta, dihidrofolat redüktaz enzimi ile tetrahidrofolik aside indirgenir. Tetrahidrofolik asit bir koenzim olup, hücrelerde metabolik işlevler için önem taşır. Özellikle DNA ve RNA yapımında önemli rolü vardır. Metotreksatın dihidrofolat redüktaz enzimine olan afinitesi folik aside göre daha fazladır ve enzime bağlanarak enzimin işlevini yerine getirmesini engeller, böylece folik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümü engellenir. Metotreksat ayrıca hücreye, tetrahidrofolatı taşıyan aktif transport mekanizması ile taşınır ve hücrelerdeki metabolik işlevlerin bozulmasına da neden olabilir¹⁵.

-5-Fluorourasil (5-FU) ve diğer floropirimidinler: 5-FU, timidilat sentetaz enzimini inhibe ederek timidilat sentezlenmesini engeller. Böylece timin sentezinin bozulmasına bağlı olarak DNA sentezi durur¹⁵.

-6-Merkaptopurin: Purin analogudur¹⁹. Fosforibozil transferaz enzimine bağlanıp aktif bileşiğine dönüşen bir ön ilaçtır¹⁵.

-6-Tiyoguanin: Pro-drug bir ilaçtır. 6-Merkaptopurin gibi fosforibozil transferaz enzimine bağlanarak aktif bileşiğine dönüşür¹⁵.

-Sitozin arabinozit (Sitarabin): Sitidin analogu olan bir nükleozittir. Hücre içinde aktif formu sitozin arabinozid trifosfat formuna dönüşerek etkinlik kazanır. Bu metabolit, DNA polimeraz alfa enzimini inhibe eder ve DNA onarımını bozar. En fazla S dönemindeki hücreleri etkiler^{7,20,21}.

Bu gruptaki diğer ilaçlar ise Fludarabin, 2-Klorodeoksiadenozin, Deoksikoformisin ve Hidroksiüredir¹¹.

2.6.1.3. Sitotoksik antibiyotikler

Değişik *Streptomyces* türlerini içeren kültürlerden izole edilen doğal ürünlerdir. DNA ve/veya RNA sentezini doğrudan inhibe ederek etki gösterirler¹⁸. Ayrıca serbest radikal oluşumuna neden olarak DNA'ya zarar verebilirler²⁰. Sitotoksik etki potansiyeli nedeniyle klinikte antibakteriyel ajan olarak kullanılmazlar. Etkileri faza özgü olmayan ilaçlardır. Hücre döngüsünün farklı fazlarında değişik etkiler gösterirler¹⁸. Gastrointestinal sistemden absorpsiyonları iyi değildir ve bu nedenle parenteral olarak kullanılan ilaçlardır. Bu grupta bulunan ilaçların çoğu radyasyonun etkisini artırdığı için radyoterapi ile aynı zamanda uygulanmaları sakıncalıdır¹⁵. Belli başlı sitotoksik antibiyotikler antrasiklin türevleri olan Daktinomisin, Daunorubisin, Doksorubisin, Epirubisin ve Aklarubisin¹⁵, ayrıca Bleomisin ve Mitomisin'dir.

Daktinomisin: DNA çift-zinciri içinde komşu guanozin-sitozin baz çiftleri arasında enine yerleşerek DNA replikasyonu ve mRNA transkripsiyonunu bozar. Döneme özgü olmayan bir ilaçtır^{15,19}.

Daunorubisin: Etki mekanizması daktinomisininkine benzer. DNA replikasyonu ve transkripsiyonunu bozar. Döneme özgü olmayan bir ilaçtır ancak, S döneminde etkinliği en fazladır^{7,15,19}.

Doksorubisin: DNA çift zincirlerinin arasına girerek DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu bozar. Topoizomeraz II'yi inhibe ederek DNA onarımını engeller. Böylece DNA sentezi durur ve DNA parçalanır. Döneme özgü olmayan bir ilaçtır; ancak en güçlü sitotoksik etkisini hücrenin S döneminde gösterir^{7,22}. Kanser hastalarında sık kullanılan ve birçok organa toksik etkileri olan bir ilaçtır²³.

Bleomisin: Hücrelerde serbest radikaller oluşturarak DNA zincirlerinde kırılmalara yol açar. Döneme özgü etkinlik gösterir. En fazla G₂ döneminde etkilidir^{8,15}.

Mitomisin: Alkilleyici bileşikler gibi etki gösteren bir ilaçtır. Ayrıca serbest radikaller oluşturur ve sitostatik etki gösterir^{15,19}.

2.6.1.4. Vinka Alkaloidleri ve Bitkisel Kaynaklı Diğer İlaçlar

Mitozun metafaz döneminde mikrotübüllerden ibaret olan mitoz iğciklerinin oluşmasını önlemek suretiyle etki gösteren ilaçlardır^{7,8}. Mikrotübüllerin yapıtaşları olan tübülün moleküllerine bağlanırlar. Tübülün moleküllerini çöktürüp mikrotübülleri oluşturmalarına engel olurlar. Böylece hücre bölünmesi metafazda durur ve hücre ölümü sağlanır. Bu ilaçlara mitoz zehirleri de denir¹⁵. Vinkristin, Vinblastin ve Vindesin olmak üzere 3 çeşit vinka alkaloidi vardır. Vindesin, Vinblastinden kısmi sentez yoluyla

elde edilir. Vinblastinden daha etkili ve daha az toksik olan bir bileşiktir. Ayrıca, Podofilotoksin türevleri ve Taksanlardan söz edilebilir. Podofilotoksin, Podophyllum türlerinin rizomlarından elde edilen glikozitlerdir. Aşırı toksik olmaları dezavantajlarıdır. Bu grupta yer alan en uygun terapötik indekse sahip olan ilaçlar Etopozit ve Tenipozittir^{15,19}. Paklitaksel (Taksol), Taksan grubuna aittir. Genellikle G₂ fazına etki göstererek mitozu inhibe eder^{7,8}.

2.6.1.5. Hormonlar ve Hormon Antagonistleri

Bu grup ilaçlar meme, over, prostat kanseri gibi hormonlara bağlı gelişen tümörlerin tedavisinde kullanılır^{15,19}. Tümör hücreleri normal hücreler gibi hormon reseptörlerine sahip oldukları için bu iki hücreyi birbirinden ayırmak mümkün değildir. Hormonlara bağlı kanserlerin önemli bölümü seksüel hormonlara bağlı tümörlerdir ve tedavide genellikle antihormon veya hormon reseptörüne afinite gösteren sitostatikler kullanılır. Bu grup ilaçların sitotoksik etkileri yoktur. Sitostatik etki gösterirler. Bu nedenle sürekli uygulanmaları gereklidir. Bu gruptaki ilaçlardan en önemlisi Tamoksifen'dir²⁰. Tamoksifen östrojen antagonistidir. Östrojenle arasında yarışmalı bir antagonizma bulunduğundan dolayı pre-menopozal kadınlarda kullanılmamalıdır^{15,19}. Bu gruptaki diğer ilaçlar ise Estrojen (Dietilstilbestrol), Progestin (Megestol asetat), Androjenler (Fluoksi Mesteron, Testelakton), kortikosteroidler (Prednison, Deksametazon), aromataz inhibitörleri (Aminoglutetimit), LHRH agonistleri (Leuprolit), antiandrojenler (Flutamit) ve somastatin analoglarıdır (Oktreotit asetat)²⁰.

2.6.1.6. Diğer Kemoterapötik İlaçlar

L-Asparaginaz:

Mikroorganizmalardan elde edilen yüksek molekül ağırlıklı bir enzimdir. Klinikte en çok kullanılan kaynak *Escherichia coli*'dir¹⁸. Tümör hücreleri protein sentezi için asparagine ihtiyaç duyar. Asparagin yokluğunda protein sentezi ve sonuç olarak DNA ve RNA sentezi yapılamaz¹⁵. Enzim asparagini aspartik aside, glutamini ise glutamik aside hidroliz eder. Bu reaksiyon; protein sentezinde hızlı ve DNA, RNA sentezinde gecikmiş bir inhibisyon sağlar. İlaç, hücre döngüsünün G₁ fazında en etkindir^{7,8,18}. Ancak bu ajan ile yapılan tedavide direnç gelişimi çok hızlıdır.

Homoharringtonin (HHT): Cephalotaxus fortunei bitkisinden elde edilen bir ilaçtır. Protein sentezini inhibe eder. DNA'nın gelişimini G₁, S₁, G₂ ve M fazlarında bozar^{7,8,12}.

Suramin: Antitümöral aktivitesi tam olarak bilinmemektedir. İlaç, nonspesifik olarak, çeşitli plazma proteinleri ve enzimlerine bağlanır. Birçok polipeptid otokrin büyüme faktörünün mitojenik aktivitesi ve bağlanmasını inhibe eder¹².

Tretionin: Güçlü bir A vitamini analogudur. Deney hayvanlarında A vitamini eksikliğinin metaplazi ve neoplazm oluşmasına yol açığının gözlenmesi, A vitamini analoglarının kemoterapi ilacı olarak geliştirilmesine neden olmuştur. Akut promyelositik lösemnin tedavisinde kullanılır¹⁵.

Radyoaktif İzotoplar: Işın tedavisine yardımcı bir tedavi şeklidir. Bu yolla doku dışarıdan ışınlanmakta ve ışın kaynağı organizma içerisine taşınmaktadır. Genellikle radyoaktif fosfor ve radyoaktif iyot bu amaçla kullanılır¹⁹.

İnterferon: İnsan interferonları antijenik özelliklerine göre α , β , γ interferonlar olarak sınıflandırılır. α -İnterferonlar, esas olarak, lökositler; β -interferonlar doku fibroblastları ve γ -interferonlar ise T lenfositlerinde sentezlenir. İnterferonların sitotoksik etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir; ancak γ -interferonun tümör hücrelerini öldüren makrofajları uyarabildiği belirlenmiştir. Bu etki, γ -interferonun hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanması sonucu oluşur¹⁵.

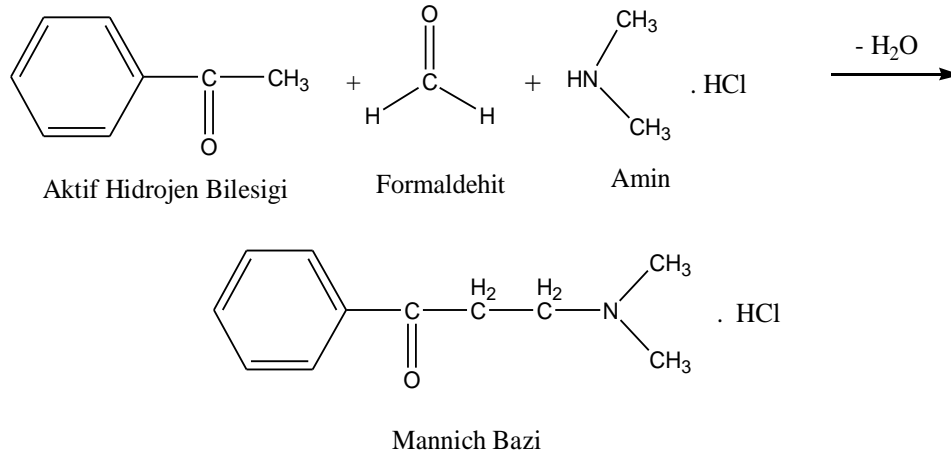
Statinler: Bu maddeler kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan 3-hidroksimetilglutaril-koenzim A'nın mevalonata dönüşümünü katalizleyen 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A redüktaz enzimini inhibe eder. Statinlerin bu özelliğinin insanlarda tümör hücreleri üzerine antimetastatik etki oluşturduğu düşünülmekte ve bu konuda çalışmalar yapılmaktadır²⁴.

Flavonoitler: Birçok çalışma, flavonoitlerin tümör hücreleri üzerinde apoptotik bir etki ile antikanser özelliğe sahip olduğunu göstermektedir²⁵.

Son zamanlarda otuzdan fazla bitkisel kaynaklı bileşik değişik kanser türlerinin tedavisinde klinik olarak test edilmiştir. Bunlardan en önemlileri Ixabepilone, Romidepsin ve ECO-4601'dir. Bu maddeler, büyük bir olasılıkla gelecekte lider bileşik veya yeni ilaç olarak kullanılacak maddelerdir. Bunlar, mevcut antikanser ilaçlardan daha güçlü ve selektif etkiye sahip, ayrıca daha az toksik etki gösteren bileşiklerdir. Örneğin, Romidepsin histon deasetilaz inhibitör etkisi ile kullanılır. Kromatin oluşumunu indükleme, tümör baskılama, gen transkripsiyonu, büyüme inhibisyonu, apoptozis ve antitümör aktivite gibi özelliklere sahip bir bileşiktir²⁶.

2.7. Mannich Bazları ve Biyolojik Etkileri

Mannich bazları (Şekil 4); genellikle aktif hidrojen atomu içeren bir bileşik, formaldehit ve bir sekonder amin arasındaki reaksiyonu sonucu oluşurlar²⁷. Mannich bazlarının sitotoksik²⁸⁻³² antineoplastik^{33,34}, antimikrobiyal^{35,36}, antikonvülzan³⁷⁻⁴⁰, antienflamatuvar^{41,42}, antimalaryal⁴³ ve antiviral⁴⁴ etki gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir.



Şekil 4. Örnek Bir Mannich Bazı

Mannich bazları *in vivo* veya *in vitro* koşullar altında deaminasyona uğramak suretiyle biyoaktif α,β -doymamış ketonları verirler^{45,46}. α,β -Doymamış ketonlar antineoplastik aktivitelerini hücre nükleofillerini β -tiyoeterleri vermek üzere alkillemek suretiyle gerçekleştirirler⁴⁷. Bu nedenle bu tip bileşiklere biyolojik alkilleyiciler denir. Mannich bazlarının antibakteriyel, antifungal, antiherpes gibi biyolojik aktivite ve toksisiteleri ile alkilleme güçleri arasındaki ilişki birçok araştırmanın konusu olmuştur

^{45,48}. Konjuge karbonilen bileşikleri ile karşılık geldikleri Mannich bazları karşılaştırıldıklarında Mannich bazlarının başlıca şu üstünlükleri belirtilebilir:

a) Mannich bazları karbonilen türevlerine göre suda daha iyi çözünerek etki yörelerine kolay taşınabilirler.

b) Toksikite derecelerinin optimum olduğu düşünülmektedir.

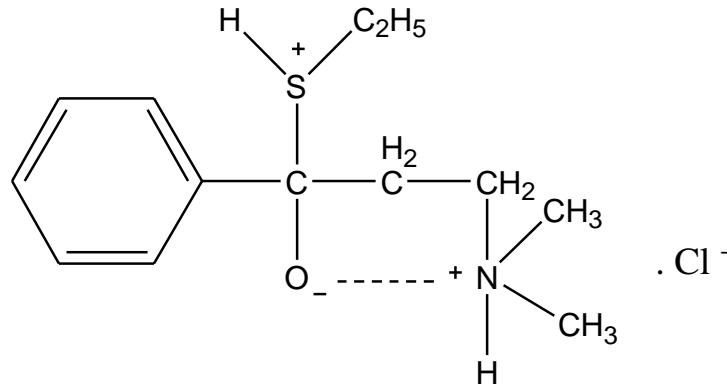
c) Hücre nükleofillerine karşı α,β -doymamış türevlerinden daha aktiftirler⁴⁹.

d) *In vivo* ve *in vitro* ortamlarda deaminasyona uğramak suretiyle biyoaktif α,β -doymamış ketonları verirler^{46,48}.

Mannich bazları ile karşılık geldikleri enonların nükleofillere karşı kimyasal tepkinlikleri arasında saptanan önemli farklılıkların iki ana kaynağı olabilir. Bunlar:

1. Dört bağlı azot pozitif bir indüktif etki oluşturur ve böylece tepkime ara ürünü stabilize edilir.

2. Tepkime ara ürünü $N^+ \cdots O^-$ etkileşmesi veya hidrojen bağı ($O \cdots H$) oluşumu ile de stabilize edilebilir.



Şekil 5. Mannich Bazlarında $N^+ \cdots O^-$ Etkileşimi veya H Bağı Oluşumu

Bu sayılan etkiler Mannich bazlarında bulunan karbonil karbon atomunun etkinliğini de arttırır. Bazı Mannich bazlarının dötero su gibi çözücüler içinde halkalaşarak aktif merkezlerini kaybetmeleri dezavantaj şeklinde değerlendirilebilir⁵⁰.

α,β -Doymamış ketonların ve bunların amino türevlerinin nükleofilik atak için daha duyarlı hale getirilmesi bileşiklerin biyoaktivite güçlerini arttıracaktır. Mannich bazlarında antineoplastik aktivite için önemli sayılan deaminasyon oranı ile Hammett değeri arasında bağıntı olduğu bilinmektedir⁵¹. Deaminasyon için amine göre β -karbonunda aktive edilmiş en az bir tane hidrojen atomu bulunması gereklidir. Bu protonun asitliği yükseldikçe deaminasyon oranı artar⁴⁵. Deaminasyon oranının artması antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite gibi biyolojik aktiviteleri de arttırır¹⁶. Bununla birlikte hedef dokuda deaminasyon oranının optimum olması önemlidir. Çünkü hedef dokudan önce eliminasyon, aktif metabolitlerin neoplastik hücrede düşük konsantrasyonda bulunmasına yol açar ve etki şiddeti azalır. Hedef dokuda deaminasyonun optimum düzeyde gerçekleşmesi biyolojik yanıtın oluşmasını sağlayacağı gibi daha az yan etkiye neden olacaktır. Bazı Mannich bazlarının deaminasyon oranları ile biyoaktiviteleri arasındaki ilişki birçok araştırmanın konusu olmuştur⁵².

Deaminasyon pKa değerinden etkilenir. pKa değeri 9.8 olan trimetilamin, pKa değeri 10.77 olan dimetilaminden daha iyi ayrılan bir gruptur. Aynı çalışmada β eliminasyonun hem aromatik halkadaki süstitüentlerden hem de ortamın pH'sından etkilendiği de kanıtlanmıştır⁴⁵.

Elektron çekici süstitüentler aromatik halkada mevcutken amine göre β hidrojeninin eliminasyonuna bağlı olarak dipol-dipol itmesi azalır. Böylece

eliminasyonun aril süstitüentlerinin Hammett (σ) değerinden etkilendiği düşüncesi desteklenmiş olur. Aromatik halka üzerindeki süstitüentler, Hammett değeri (+) olan, karbonile göre β karbonun fraksiyonel pozitif yükünü arttırlar. Bu da tiyol ve diğer hücre nükleofilleri ile daha etkin bir alkilasyona neden olur. Tepkime hızını belirleyen basamak β -hidrojen bağının kopma basamağıdır⁴⁵. Buna göre alkillemenin gerçekleştiği merkezin sterik olarak korunmaması yararlı olabilir. Amine göre β -karbonunda dallanma söz konusu olduğunda biyolojik aktivite bundan etkilenebilir. Bu durumun olası etkileri şunlar olabilir:

a) β -Eliminasyon güçleşir ve deaminasyon oranının azalmasına bağlı olarak biyolojik aktivitede zayıflama beklenebilir.

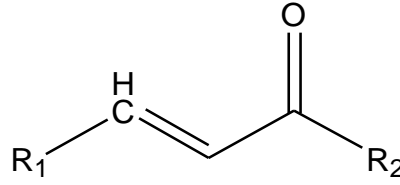
b) Deaminasyondan sonra nükleofilin katılma yapması sterik olarak engellenebileceği için alkilleme ve bunun sonucunda biyoaktivitede azalma olabilir.

Moleküldeki alkilleme yeteneği olabilecek aktif merkezleri çoğaltmak için Dimmock ve arkadaşları tarafından *bis*-Mannich bazları ve bunların katerner amonyum türevleri tasarlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda *bis* türevlerinin mono türevlerine göre daha etkili oldukları ileri sürülmüştür^{50,53}. Mannich bazlarının nükleofilik atak için daha duyarlı hale gelmeleri alkilleyici antineoplastik aktivite güçlerini arttıracaktır. Bu amaçla molekülün elektronik (Hammett değişmezi) ve hidrofobik (Hansch süstitüent değişmezi) özellikleri aromatik süstitüsyonla yönlendirilebilir.

Mannich bazları çoğu zaman α,β -doymamış karbonil bileşiklerinin prodroğu olarak tasarlanırlar. α,β -Doymamış karbonil bileşiklerinin etki mekanizması Michael katılma tepkimesi ile açıklanır.

2.8. α,β -Doymamış Ketonlar

α,β -doymamış ketonların (Şekil 6), amin ve hidroksil gruplarına karşı ilgisi az ya da yok denecek kadar, tiyollere karşı ilgisi ise çok fazladır^{54,55}. Bu özellik nükleik asitlerle etkileşmeyi engeller. Bundan dolayı bu bileşiklere alkilleyici bileşiklerin kullanımında gözlenen kanserojenik⁵⁶ ve mutajenik⁵⁷ yan etkiler gözlenmez.

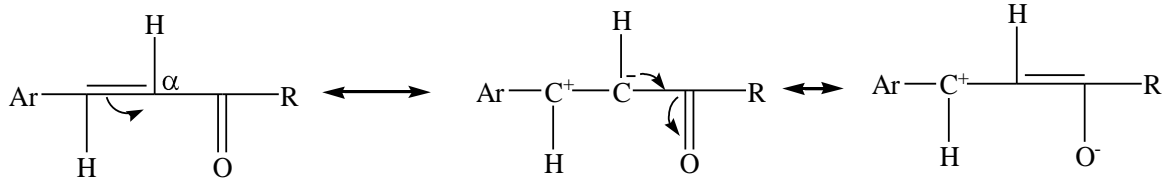


Şekil 6. α,β -Doymamış Keton

Tiyollere karşı α,β -doymamış ketonların tercihlili afinitesi daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir^{58,59}. Hücre bölünmelerinde artmış glutatyon seviyeleri daha önce rapor edilmiştir⁶⁰. Bu yüzden normal dokulardan ziyade tümörlü dokulara karşı başarılı bir seçici sitotoksiste α,β -doymamış ketonlarla mümkün olabilir. Ayrıca bazı seçici tiyol alkilleyicilerin tümörlü dokulara normal dokulardan daha fazla etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu tespit, genellikle kanserli dokulardan daha çok normal dokulardaki makromoleküllere bağlanmayı tercih eden geleneksel alkilleyici ajanlara ve antimetabolitlere karşı, tercihen tümörlü dokulardaki DNA, RNA ve proteinlerin farklı prekürsörlerine bağlanan seçici tiyol alkilleyicilerin yeteneğine atfedilir⁶¹. Bu yüzden α,β -doymamış ketonların tiyollere karşı tercihlili afinitesi tümörlü dokuda DNA, RNA ve protein sentezlerinde normal dokulara göre daha etkili olabileceği savunulabilir.

2.9. Aktif Karbon-Karbon Çift Bağlarına Michael Katımı

Michael katılma tepkimesi aktif α -hidrojeni taşıyan bir vericinin (örneğin RRCH-COR) bazik koşullarda konjuge bir sistemin parçasını oluşturan aktif karbon-karbon doymamışlığına (Şekil 7) katılma yapması demektir⁶². Tepkimenin bu tanımı tiyol, amin ve hidroksil gibi elektron verici nükleofilik grupların α,β -doymamış keton sistemi ile tepkimeye girebilme yeteneğine sahip olduğunu açıklar. Nükleofilik atak için karbon-karbon arasında π elektronlarının varlığı ve rezonans ya da indüktif etkilerle β -karbonunun elektron yoğunluğunu azaltan aktifleştirici grupların bulunması gerekir. Tepkimenin gerçekleşmesine katkıda bulunan rezonans yapılar aşağıda gösterilmiştir⁶³.



R= H, Alkil, Aril

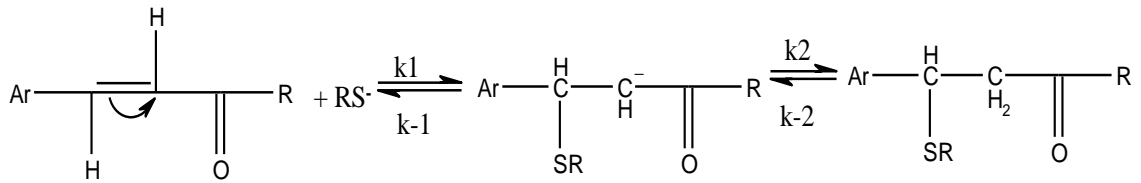
Şekil 7. Michael Katılma Tepkimesinde Rezonans Yapı

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 katılması ile aynı koşullarda yürüyen tersinir bir tepkimenin varlığı da (retro-Michael tepkimesi) bilinmektedir. Retro-Michael tepkimesi, Michael katılma ürününün baz varlığında parçalanarak olefinleri oluşturmasıdır. Bazı durumlarda parçalanma bazik katalizör olmaksızın hafif ısıtılmakla da gerçekleşebilir^{64,65}. Michael

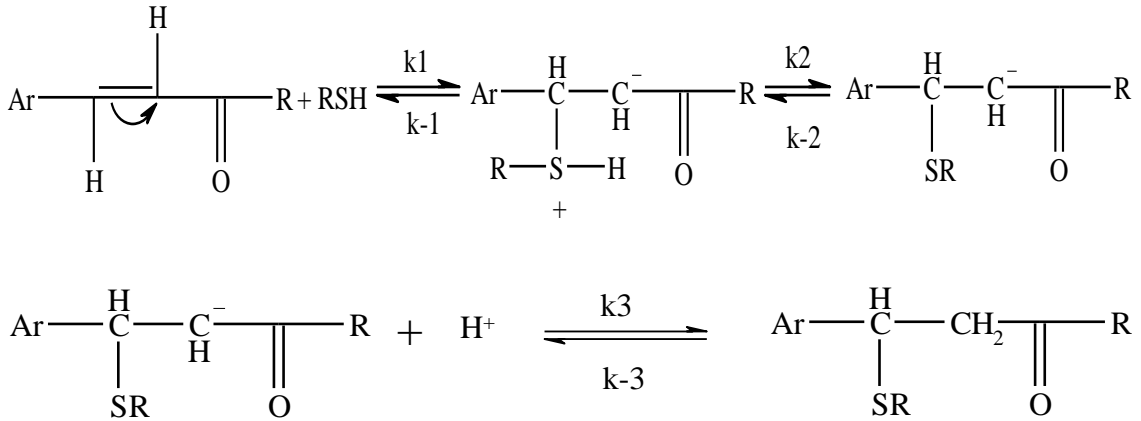
reaksiyonunun en verimli uygulamaları dialkil malonat veya β -ketoesterlerden türeyen enolat anyonlarının, sterik olarak engellenmeyen α,β -doymamış ketonlara katılımıdır.

2.9.1. Michael katılma tepkimesinin mekanizması

Dissosiyе olmuş (RS^-) ve dissosiyе olmamış (RSH) tiyol nükleofilleri ile α,β -doymamış ketonların verdikleri tepkime mekanizmaları Şekil 8 ve Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 8. Dissosiyе Tiyollerin Michael Katılma Mekanizması



Şekil 9. Nondissosiyе Tiyollerin Michael Katılma Mekanizması

Kinetik çalışmalarda en yavaş tepkime basamağı nükleofilin β -karbonuna atak yaptığı basamak olduğu, β -karbonunun elektrofilliği ve verici grubun nükleofilliği arttıkça tepkimenin hızlandığı, sterik ve elektronik etkiler, çözücüler ve pH gibi diğer etkenlerin tepkime hızını önemli ölçüde etkilediği vurgulanmaktadır⁶⁶.

2.10. 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 açıklar⁶⁷.

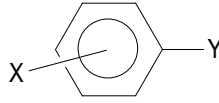
İlaç tasarlama da QSAR kapsamında muhtelif korelasyon ve yaklaşımlardan yararlanılır. Bunlar:

- Hammett korelasyonu
- Log P
- Hansch analizi
- Topliss yaklaşımı

2.10.1. 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 açıklar⁶⁸.

Hammett değişmezi (σ) bir aromatik halkanın meta ve para konumlarındaki sübstütientlerinin indüktif ve rezonans etkilerinin toplamı olan elektronik etkisinin kantitatif ifadesidir. σ elektron veren gruplar için (-), elektron çeken gruplar için (+) işareti alır. Pek çok sübstütientin Hammett değişmezleri çeşitli çalışmalarla deneysel olarak belirlenmiştir^{69,70}. Yeterli sayıda sentez yapıldıktan sonra bulunan değerlerin standart sapmaları ve hata oranları saptanır. Böylece istenildiği zaman artık başka sentez yapmadan belirli moleköl etkisini yönlendirecek ya da nicel olarak değiştirecek gruplar için bilgi edinilmiş olur. Bu tür incelemelerde fizikokimyasal parametreler kullanılır. Aşağıdaki formölde görölen genel yapıda Y yan zincirinin etkinliği ile X sübstütientinin özelliği ve yeri arasında bir ilişki vardır.



Bu ilişki aşağıdaki denklemlerle verilir:

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

Bu denklemlerde K^H nonsübstütie bileşimin reaksiyonları için denge değişmezidir. K^X sübstütie olmuş bileşimin reaksiyonları için denge değişmezidir. σ , yalnız X sübstütientinin 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: Süstitüe olmuş bileşiğin etkinliği ($\log K^x$ olarak verilen değer) doğrusal olarak σ ile ilişkilidir. P ise süstitüentin etkisini simgeler.

2.10.2. Hansch analizi

İlk kez 1964 yılında Hansch korelasyonu *in vivo* biyolojik sistemlere uygulandı⁷¹. 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 süstitüentinin çözünürlük üzerine etkisini araştırmak için :

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

eşitliğinden yararlanılır. Bu eşitlikte P_H nonsüstitüe bileşiğin, P_X süstitüe bileşiğin dağılım katsayısını, π ise Hansch hidrofobik süstitüent değişmezini gösterir. π değerini pozitif bulunması incelenen X süstitüentinin molekülün yağdaki çözünürlüğünü ana bileşiğin yağdaki çözünürlüğüne göre arttırdığını gösterir. π değerinin negatif bulunması ise bunun aksini ifade eder. Hansch hidrofobik süstitüent değişmezinde gözlenen farklılıkların σ ile ifade edilen elektronik etkileşmeden kaynaklandığı kanıtlanmıştır⁷². Optimum dağıtım katsayılı ($\log P$) bir bileşik, bu değerden daha büyük ya da daha küçük $\log P$ değerine sahip bileşiklerden daha yüksek konsantrasyonda etki yöresine

ulaşır. Bileşiklerin hem π değeri hem de log P değeri ile biyolojik aktivite arasında bir korelasyon kurulabildiği için π değerinin literatür bilgileri arasında bulunmadığı durumlarda log P değeri ve bundan yararlanarak π değeri deneysel olarak saptanabilir.

2.10.3. 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 dağılım katsayısı yoluyla ölçülebilir. Bir ilacın dağılım katsayısı, o ilacın organik çözücü-su karışımında çalkalandığında organik çözücü ile suya geçen niceliğinin oranıdır.

Dağılım katsayısı bir ilacın yapı-etki ilişkisinin araştırılmasında, kemoterapötik bileşiklerin geliştirilmesinde önemlidir⁷³. Yapı-etki ilişkisi çalışmalarında sık kullanılan parametreler karşılaştırıldığında, regresyon analizi, biyoaktivite korelasyonunda log P (oktanol-su) değerinin çalışılan diğer parametrelerden daha önemli olduğunu göstermiştir.

α,β -Doymamış ketonlarla yapılan bir araştırmada hidrofilik/hidrofobik özelliklerin biyoaktiviteyi değiştirdiği belirlenmiş⁷⁴ ve seskiterpen laktonlarda lipofilite ve sitotoksite arasında kesin bir ilişki olduğu saptanmıştır⁷⁵. Yine lipoidal pentadesil yan zinciri taşıyan ve taşımayan kinon türevlerinde lipofilliğin biyoaktiviteyi olumsuz yönde etkilediği görülmüştür⁷⁶. Kanserli hücre DNA'sına özgü bir ilacın, hücre membranlarından geçiş şekline 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 saptanmıştır⁴⁹.

2.10.4. İyonlaşma Sabiti (Ka)

Her asit ya da baz sulu ortama alındığında, yapısına bağlı olarak değişik iyonizasyon oranlarında dissosiyasyon olur. Asitlerin ya da 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 ya da 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 üç şekilde bulunabilirler. Belirli pH'da bir ilacın iyonize ya da noniyonize şekillerinin bağlı konsantrasyonu Henderson-Hasselbach denklemi ile hesaplanabilir.

Asitler için:

Bazlar için:

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

$$\frac{(B)}{(BH^+)}$$

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

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

i: İlacın iyonik şeklinin konsantrasyonudur.

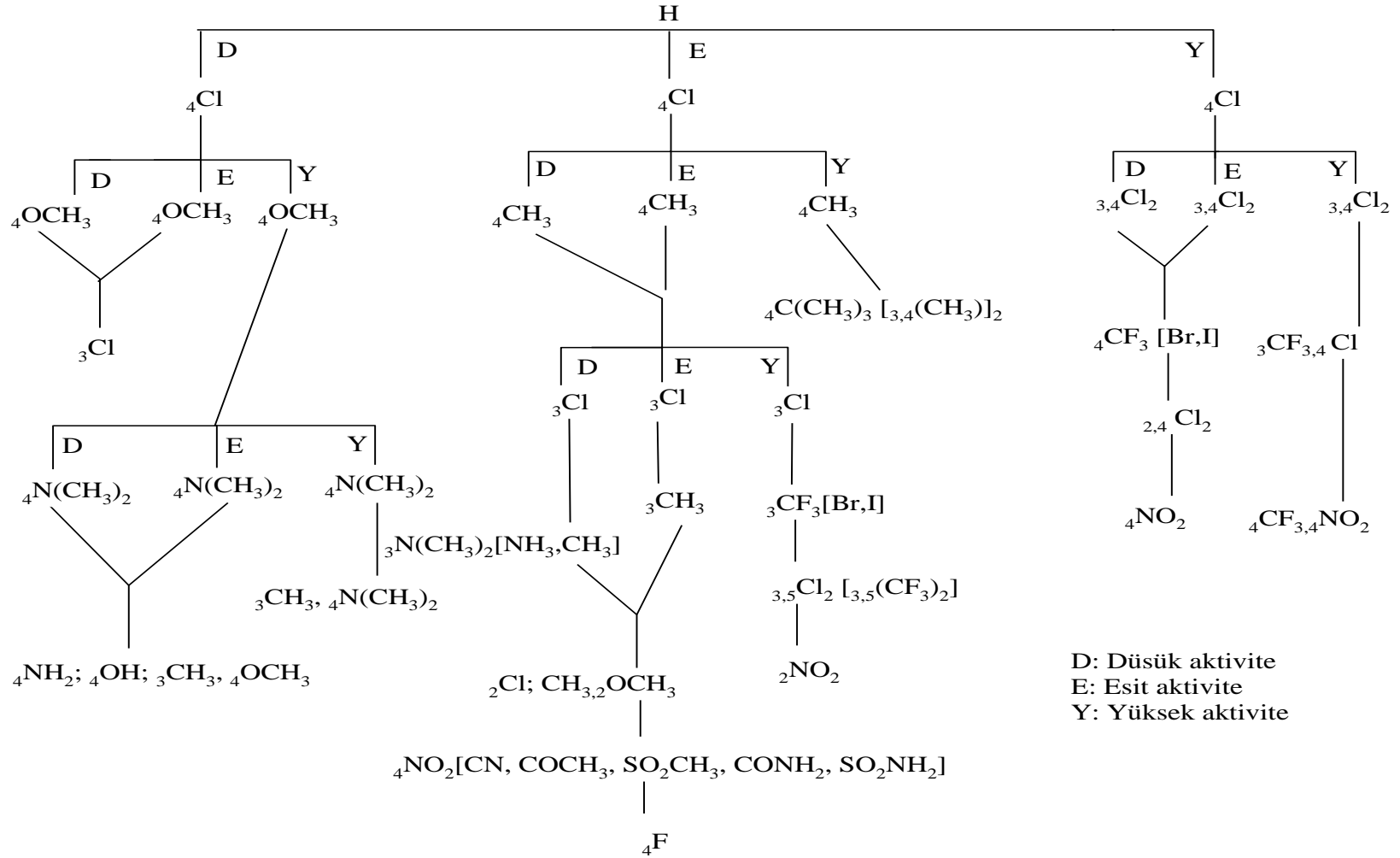
N: Noniyonik (moleküler) şeklinin konsantrasyonudur.

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

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

2.11. İlaç Tasarlama da Topliss Yaklaşımı

Topliss yöntemi Hansch analizine benzer bir yöntemdir. Hansch yönteminden farkı kompüterize olmamasıdır. Bu yaklaşım model bileşiğin aktivitesini optimize etmek için kullanılan nisbeten basit ve matematiksel olmayan bir yoldur. Topliss'in "Karar Ağacı" yaklaşımı aromatik halkaları ve yan zincirleri modifiye etmek için kullanılır⁴⁷. Bu yöntem aromatik türev serilerinin hazırlanmasını ve adım adım sentez edilmelerini içerir (Şekil 10). Aril halkalı bileşiklerde önce 4-kloro analogu hazırlanır ve bunun biyolojik aktivitesi nonsüstitüe ana bileşikle karşılaştırılır. Eğer 4-kloro türevi daha aktifse bir sonraki basamakta 3,4-dikloro türevi sentezlenir. Böylece hem π , hem de σ değerleri önemli ölçüde artırılmış olur. Eğer 4-kloro türevi ana bileşikten daha az aktifse π ve σ değerlerini ana bileşiğe göre daha düşürmek amacıyla 4-metoksi türevi hazırlanır. 4-kloro türevi ana bileşikle eşit aktiviteye sahipse 4-metil analogu hazırlanır. π ve σ değerleri göz önünde tutularak bu sistematik basamaklandırma işlemine optimum aktivite elde edilinceye kadar devam edilir.

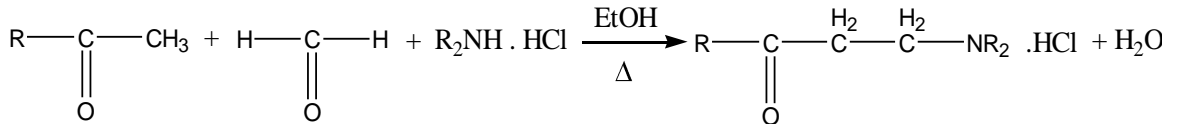


Şekil 10. İlaç Tasarlama Topliss Yaklaşımını Açıklayan Karar Ağacı

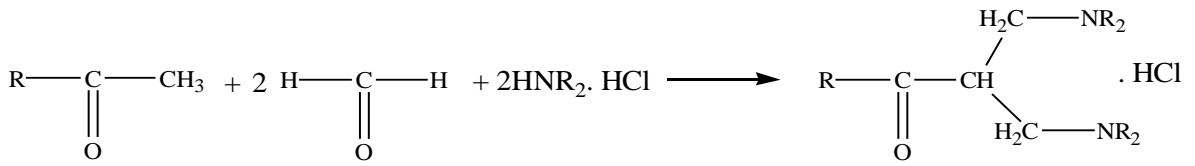
2.12. Sentez Tepkimeleri

2.12.1. Mannich tepkimesi

Klasik Mannich tepkimesi birincil ve ikincil aminlerin veya ender olarak amonyağın genellikle hidroklorür tuzları şeklinde bir aldehit (genellikle formaldehit) ve en az bir aktif hidrojen taşıyan bir bileşikle kondensasyonunu kapsar^{77,78}. Tepkimenin ana özelliği aktif hidrojen atomunun birincil, ikincil veya üçüncül amino türevlerini yani Mannich bazlarını vermek üzere aminometil ya da süstitüe aminometil grupları ile yer değiştirmesidir (Şekil 11). Eğer substratta birden çok aktif hidrojen varsa birden çok aminometilleme gerçekleşecektir⁷⁹ (Şekil 12).



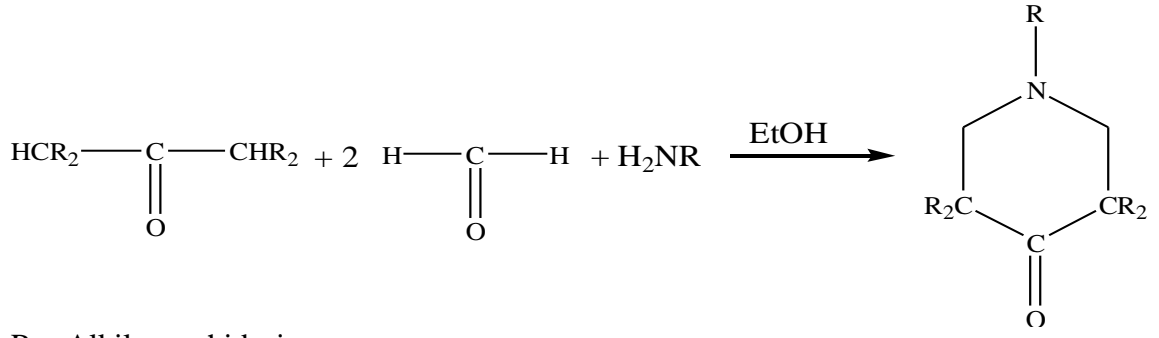
Şekil 11. Monoaminometilasyon Sonucu Oluşan Mono-Mannich Bazı



R = Alkil veya aril
R₂ = Hidrojen veya alkil

Şekil 12. Diaminometilasyon Sonucu Oluşan *Bis*-Mannich Bazı

Aynı molekülde farklı yerlerde aktif hidrojenler varsa birincil amin ya da amonyakla yürütülen Mannich tepkimeleri ile halkalaşmış Mannich bazları elde edilir⁷⁷ (Şekil 13).

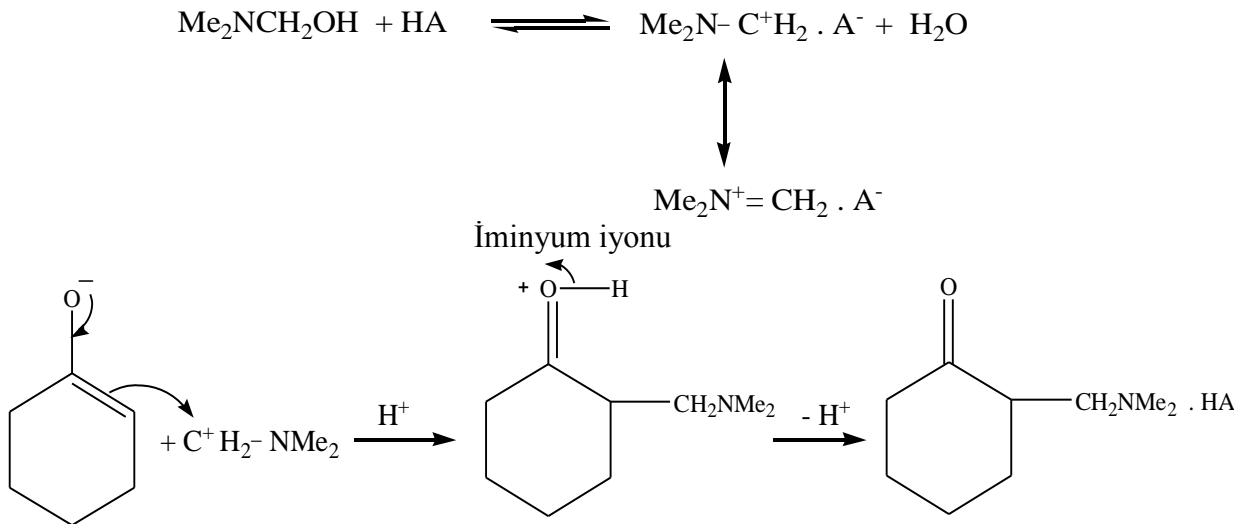


R = Alkil veya hidrojen

R₂ = Alkil veya aril

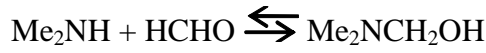
Şekil 13. Halkalaşmış Mannich Bazı

Mannich tepkimesi asidik veya bazik koşullarda uygun çözücüler (genellikle alkoller ve protik çözücüler) kullanılarak geri çeviren soğutucu altında yürür. Sikloheksanonun asit ve baz katalizli aminometilleme tepkime mekanizması aşağıda özetlenmiştir⁷⁸.

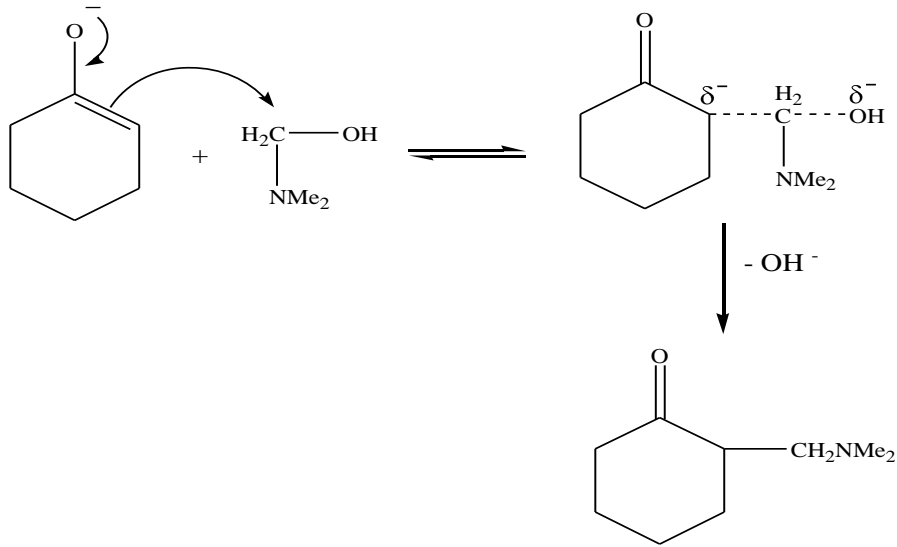


Şekil 14. Sikloheksanonun Asit Katalizli Aminometilleme Tepkime Mekanizması

Asidik koşullarda amin büyük ölçüde tuz şeklinde bulunacağı için tepkime iminyum iyonu (Şekil 14) üzerinden yürür. Bununla birlikte bazik koşullarda mekanizma, iminyum iyonu yerine sadece dimetilaminometanol (Şekil 15) ara ürünündeki hidroksilin, oluşan sikloheksanon karbanyonu ile yer değiştirmesi şeklinde açıklanabilir. Tepkime mekanizması SN_2 'dir.



Dimetilaminometanol



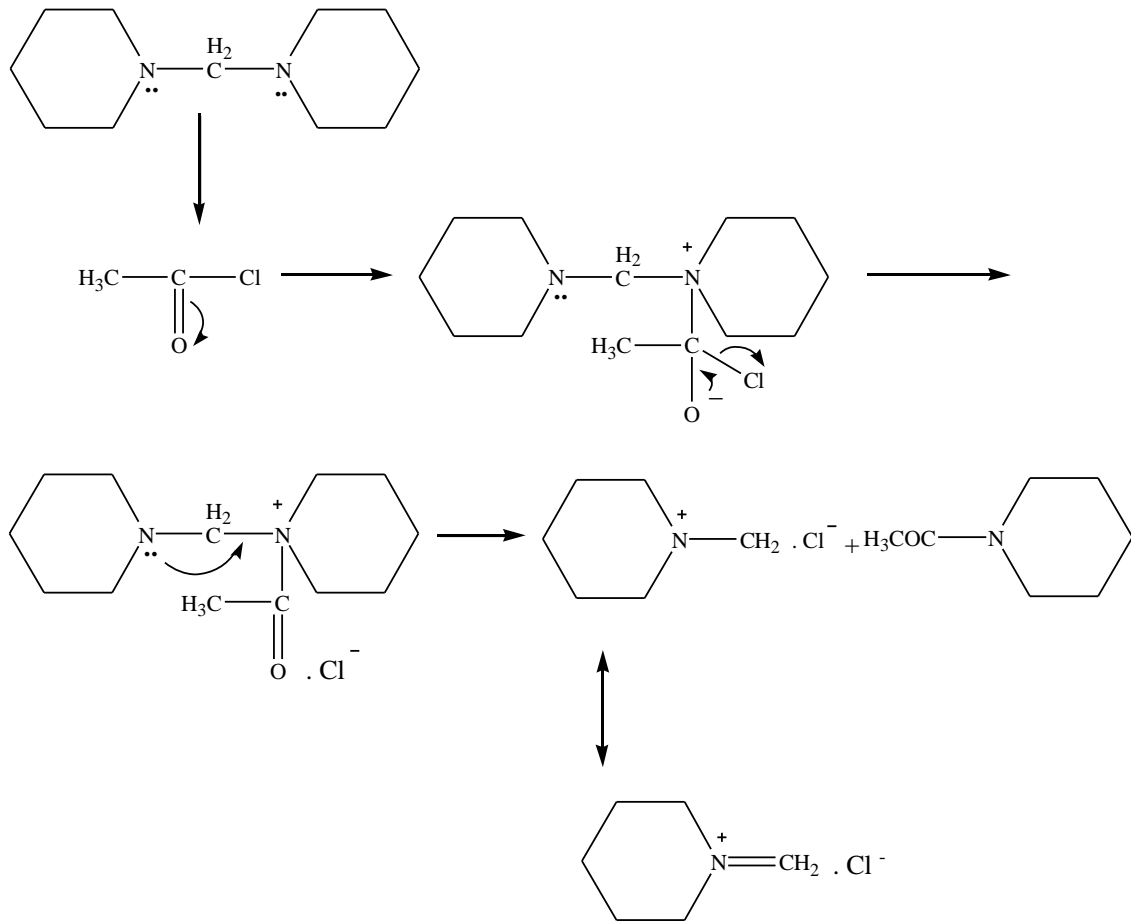
Şekil 15. Sikloheksanonun Baz Katalizli Aminometilleme Tepkime Mekanizması

Bifonksiyonel aminlerle ya da substratlarla yürütülen Mannich tepkimeleri polimerik makromolekülleri verir⁸⁰. NH-Amitler Mannich tepkimelerinde amin reaktifi gibi davranan substratlardır. Mannich tepkimelerinde genellikle formaldehit kullanılır. Bununla birlikte aminoalkilleme amacıyla arilaldehitlerin de kullanılması olanaklıdır. Aktif hidrojen bileşiği olarak ketonların kullanıldığı bazı durumlarda molekül içi

aminoalkilleme gerçekleşerek halkalı türevlerin oluştuğu bilinmektedir. Mannich sentezinde birden çok yerde aminometillemeye elverişli merkezler taşıyan substratlarla çalışıldığı zaman kemoselektiviteyi sağlamak olanaklıdır. Örneğin alkil keton grubunun bağlı olduğu fenollerde tepkime ortamının pH'sına göre aminoalkilleme kemoselektivite gösterebilir. Asidik koşullarda alkil keto gruplarından, nötral ya da bazik koşullarda aromatik halkadan Mannich tepkimesi yürür. Asimetrik ketonların α - ya da α' -CH' in hangisinden, fenollerde *orto* ya da *para* konumlarının hangisinden veya heterosiklik moleküllerde CH ya da NH gruplarının hangisinden aminometillemenin gerçekleşeceği sorusu Mannich tepkimelerinde rejiyoselektivite sorusunun kaynağını oluşturur.

2.12.2. Mannich Reaktifi

Klasik Mannich tepkimesinin yeterli olmadığı durumlarda aminometilleyici olarak önceden hazırlanmış iminyum tuzları (şekil 16) kullanılır. Bu tuzlara Mannich reaktifi adı verilir. Metilen iminyum tuzlarını en uygun hazırlama yöntemi uygun metilen-*bis* aminlerin asetil halojenürlerle tepkimeye girmesidir⁸¹. Metilen iminyum tuzları susuz zltilerde yüksek verimle oluşur ve çoğunlukla düşük sıcaklık gerektirir. Mannich reaktifinin oluşumuna ait tepkime mekanizması dipiperidinometan rneği üzerinde aşağıda örneklenmiştir (şekil 16). Buna göre dipiperidinometan'daki azot asetil klorürün karbonil karbonuna atak yapar. Oluşan ara üründen klorür iyonu elimine olarak bir başka ara ürün elde edilir. Bu ara üründe Mannich belirtecini vermek üzere bir molekl N-piperidinoasetamit kaybeder (şekil 16).



Şekil 16. Mannich Reaktifinin Oluşumuna Ait Tepkime Mekanizması

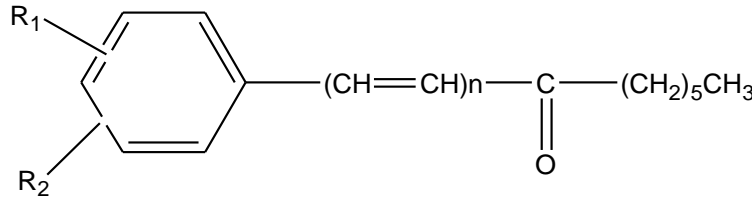
3. PLANLANAN ÇALIŞMA ve ÖNEMİ

α,β -doymamış ketonların sitotoksik ve antikanser etkileri bilinmektedir²⁷. Bu bileşiklerin amin ve hidroksil gruplarına duyarlılıkları yok veya çok az iken, tiyol gruplarına karşı yüksektir. Bu özellik sebebiyle bu tip bileşikler, nükleik asitlerin tiyol dışı işlevsel grupları ile etkileşmesinden kaynaklanan karsinojenik ve mutajenik etkiyi göstermezler⁸². Mitozdan hemen önce veya mitoz sırasında tiyol miktarı çok yüksek olduğu için⁸³ bu tip bileşikler normal dokulardan ziyade daha hızlı büyüyen tümoral dokulara karşı daha kuvvetli ve seçici toksisite gösterebilirler. Sitotoksisite bileşik tiyol katım tepkimesi sonucu oluştuğundan tiyol katım oranı sitotoksisite açısından önemli bir parametredir. Sonuç olarak α,β -doymamış ketonlar sitotoksisiteyi hücre nükleofillerini alkilemek sureti ile biyoaktivite gösterirler ve bu bileşiklerin tiyol alkilatörü şeklinde tanımlanmaları yerinde olur.

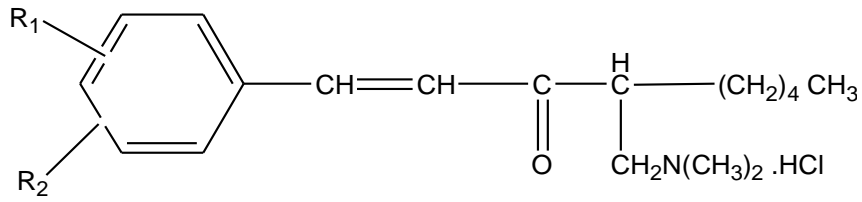
α,β -doymamış ketonların tiyollerle β -keto tiyerleri vermek üzere tepkimeye girdikleri ve böylece antineoplastik aktivite gösterdikleri bilindiğinden^{47,79,84}, α,β -doymamış ketonların nükleofilik atak için daha duyarlı hale getirilmesi bileşiklerin alkilleyici antineoplastik aktivite güçlerini arttıracaktır. Mannich bazlarında antineoplastik aktivite için önemli sayılan deaminasyon oranı ile Hammett değeri arasında ilişki olduğu bilinmektedir⁸⁵.

Daha önceki araştırmalar bazı konjuge stiril ketonların (Şekil 17) P388 ve L1210 lösemilerde inaktif iken^{85,86}, bunların Mannich bazlarının (Şekil 18) önemli sitotoksite gösterdiğini rapor etmiştir. Bu aktivite farkını açıklamak üzere bu bileşiklerin mitokondriyal solunum üzerindeki etkilerine bakılmış ve stiril ketonların mitokondriyal fonksiyonu etkilemediği, bunların Mannich bazlarının mitokondriyal solunumu etkilediğini göstermiştir⁸⁷. Ayrıca Mannich bazlarının normal ve tümöral mitokondriler

arasında seçiciliği vardır⁸⁶. Şekil 17'deki stiril keton ve onun Mannich bazının (Şekil 18) biyomimetik model nükleofil olan etantiyol ile reaksiyonunda, Mannich bazlarının 240 kez hızlı tepkime verdiği görülmüştür⁸⁶. Sonuç olarak biyoaktivitedeki önemli farklılık Mannich bazlarının nükleofillere karşı ilgisinin daha farklı olmasından kaynaklanır.



Şekil 17. Konjuge Stilren Keton



Şekil 18. Mannich Bazı

3.1. Çalışmanın Amacı

Bu tez kapsamında α,β -doymamış keton kimyasal bileşenini içeren 1-aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür kimyasal yapısına sahip Mannich bazlarının sentezi yukarıdaki gerekçelerle tasarlanmıştır. Tiyol katım oranını ve deaminasyon oranını yönlendirici etkilerinden dolayı fenil halkasının para konumunda farklı elektronik özelliklere yani Hammett değerine sahip sübstitüentlerin

bulundurulması düşünülmüştür. Bu çalışmada kullanılan sübstitüentlerin Hammett (σ) ve Hansch (π) değerleri şu şekildedir:

Hammett (σ) değerleri: H (0.00), CH₃ (-0.17), OCH₃ (-0.27), Cl (0.23), Br (0.23), F (0.06), NO₂ (0.79) dir⁸⁸.

Hansch (π) değerleri: H (0.00), CH₃ (0.50), OCH₃ (-0.02), Cl (0.76), Br (0.94), F (0.13), NO₂ (-0.28) dir⁸⁹.

Bu yolla (karaciğer kanseri) HEP-3B hücre hattına karşı bileşiklerin sitotoksitesinin ne şekilde değiştiğinin gözlenmesi planlanmıştır. Laboratuvarımızın ana amacı karaciğer kanserinin tahrip edici etkisini hafifletici yeni bileşikler bulmaktır. ABD’de kanserle ilişkili ölümlerin yaklaşık %20’si karaciğer ve safra sisteminin tümörlerinden ya da karaciğere metastaz yapan ekstra hepatik orijinli tümörlerden kaynaklanır. Bu sebeple bileşiklerin sitotoksitelerinin değerlendirilmesi için HEP-3B karaciğer kanseri hücre hattının kullanımı planlanmıştır. Ayrıca, izosterik halkalar olan benzen-tiyofen halkalarının değişimi de biyolojik aktiviteye aromatik izosterik halka değişiminin etkisini değerlendirmek üzere göz önünde bulundurulmuştur. Bu çalışma ile elde edilen biyolojik aktivite sonuçlarının ileriki çalışmalar için model bileşiklerin seçim ve tasarımına olanak sağlayabileceği düşünülmektedir.

4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1. Kimyasallar ve Yöntemler

Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar: Bileşiklerin sentezinde asetofenon (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany), 4-metilasetofenon (Fluka, Steinheim, Germany), 4-metoksiasetofenon (Acros Organics, Geel, Belgium), 4-kloroasetofenon (Fluka, Steinheim, Germany), 2-asetiltiyofen (Fluka, Steinheim, Germany), 4-nitroasetofenon (Fluka, Steinheim, Germany), 4-floroasetofenon (Acros Organics, Geel, Belgium), 4-bromoasetofenon (Acros Organics, Geel, Belgium), 2,4 dikloroasetofenon (Acros Organics, New Jersey, USA), N-metil piperazin (Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), N-metil piperazin dihidroklorür (tarafımdan hazırlandı), paraformaldehit (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany), dietil eter (Fluka, Steinheim, Germany), metanol (Riedel-de Haen, Seelze, Germany), hidroklorik asit (Reidel-de Haen, Seelze, Germany), asetik asit (Reidel-de Haen, Seelze, Germany), kloroform (Lab-Scan Analytical Sciences, Dublin, Ireland)

Yöntemler

Kromatografik Analizler: Sentez çalışmaları sırasında tepkimeyi izlemek ve sentezlenen bileşiklerin saflıklarını kontrol etmek amacıyla ince tabaka kromatografisinden (İ.T.K.) yararlanıldı. İ.T.K. için 0.25 mm kalınlıktaki silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck Art 5715) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Kromatografi işlemi oda sıcaklığında yapıldı ve sürükleme işlemi kromatografi tankının çözücü buharlarıyla doyurulmasından sonra gerçekleştirildi. Sürükleme işleminden sonra açık havada kurutulan plaklar üzerindeki lekelerin belirlenmesinde 254 nm dalga boyundaki UV

ışığından (Mineralight Lamp UVGL-58) ve iyot tankından faydalanıldı. İ.T.K'da kullanılan hareketli faz sistemi sentezlenen Mannich bazları için kloroform: metanol (9:1 veya 8:2) dir.

Spektral Analizler: Bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumları, 400MHz Varian spektrofotometresinde (Danbury, U.S.A.), CD_3OD içerisinde çözülerek alındı. Bileşiklerin kütle spektrumları Waters, Xevo- G2Q TOF # YBA052 spektrometresi kullanılarak alınmıştır.

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

İstatistiksel Analizler: Bileşiklerin LC_{50} değerleriyle fizikokimyasal parametreler arasındaki ilişkiler SPSS 11.5 (IBM SPSS, USA) istatistik programı Bivariate Pearson Correlation yöntemi ile analiz edilmiştir.

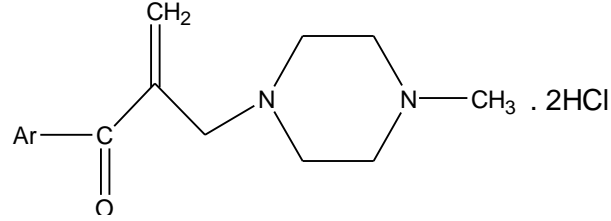
4.2. Sentez ve Spektral Bulgular

4.2.1. 1-Aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür tipi (Şekil 19)

Mannich bazlarının genel sentez yöntemi

Mannich bazlarının genel sentezinde keton bileşiği, paraformaldehit ve amin dihidroklorür sırasıyla alınarak 1: 2: 1 mol oranlarında asetik asit içerisinde 120°C 'de geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. CHCl_3 : MeOH (4:1) çözücü sistemi kullanılarak ve $^1\text{H-NMR}$ alınarak izlendi. Reaksiyon çözücüsü düşük basınç altında damıtıldı. Ham ürün uygun çözücü veya çözücü karışımları kullanılmak suretiyle kristallendirildi. Kristallerin oluşumu için gerektiğinde $0-4^\circ\text{C}$ 'da bekletme işlemi uygulandı. Oluşan kristaller oda sıcaklığında kurutuldu. Her bir bileşiğin detaylı

sentezi aşağıda sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri Tablo 2’ de sunulmuştur.



Ar: C₆H₅ (1), 4-CH₃C₆H₄ (2), 4-CH₃OC₆H₄ (3), 4-ClC₆H₄ (4), 4-BrC₆H₄ (5), 4-FC₆H₄ (6), 4-NO₂C₆H₄ (7), 2,4-Cl₂C₆H₃ (8), C₄H₃S (2-il) (9)

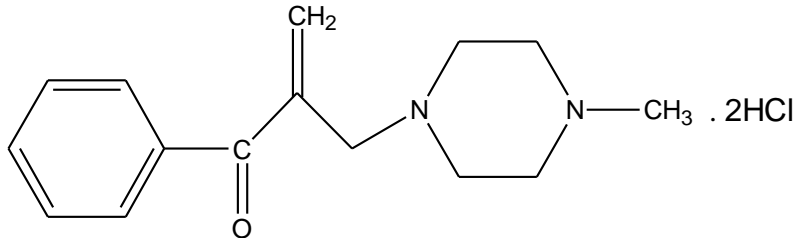
Şekil 19. 1-Aril-2-(4-metilpiperazinometil)-2-propen-1-on dihidroklorür (1-9)

Tablo 2. Sentezlenen Bileşiklerin Deneysel Verileri

Bileşik No	Aril (Ar)	Keton (mmol)	Paraformaldehit (mmol)	Amin tuzu (mmol)	Asetik Asit (ml)	Reaksiyon Süresi s (saat)	Verim (%)	Erime Noktası (°C)	Literatür Erime Noktaları (°C)
1	C ₆ H ₅	17	34	17	15	2 s	17	218-220	231-233 ⁵
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	14	28	14	15	3.5 s	15	208-210	
3	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	13	26	13	24	3 s	22	214-218	214-224 ⁵
4	4-ClC ₆ H ₄	12	24	12	22	1 s	19	218-220	215-220 ⁵
5	4-BrC ₆ H ₄	10	20	10	18	4 s	23	220-222	
6	4-FC ₆ H ₄	14	28	14	25	2.5 s	22	220-222	
7	4-NO ₂ C ₆ H ₄	12	24	12	21	3 s	22	228-230	
8	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	10	20	10	18	2.5	16	228-230	
9	C ₄ H ₃ S(2-il)	16	32	16	29	3 s	23	217-219	

4.2.1.1. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

Asetofenon (2 gr, 17 mmol), paraformaldehit (0.99 g, 34 mmol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.78 g, 17 mmol) asetik asitteki (15 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'de ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃:MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz de ¹H-NMR'ı alınarak gözlemlendi. Reaksiyon 2 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.89 g, %17). Bileşiğin erime noktası 218-220°C'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası 231-233°C'dir⁵.



Şekil 20. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 1)

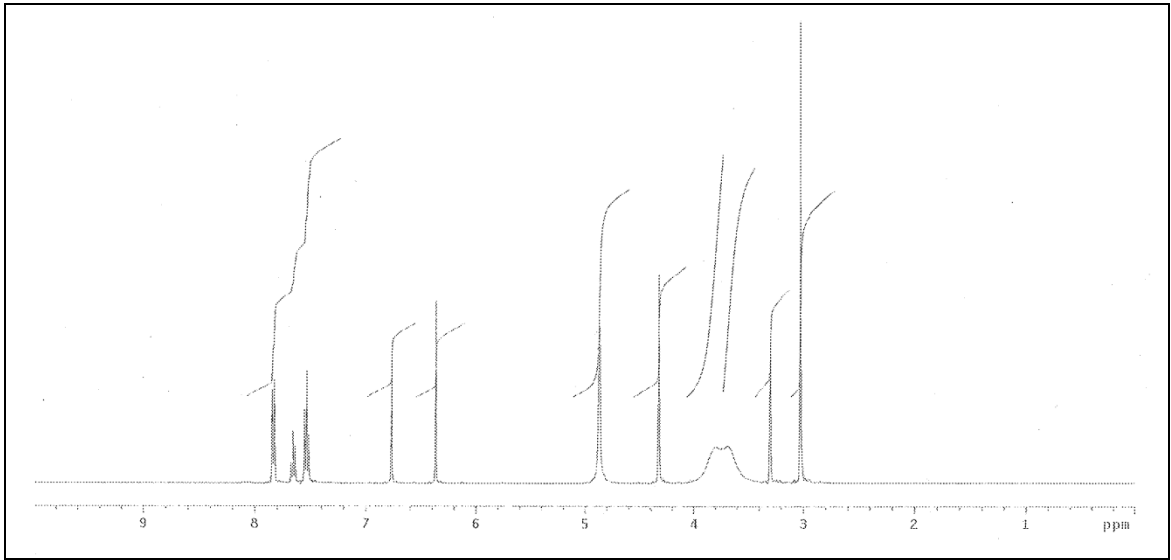
δ (ppm): 3.03 (3H, s), 3.80-3.69 (8H, m), 4.33 (2H, s), 6.37 (1H, s), 6.77 (1H, s), 7.85-7.52 (5H, m)

^{13}C NMR (CD₃OD) (Spektrum No 2)

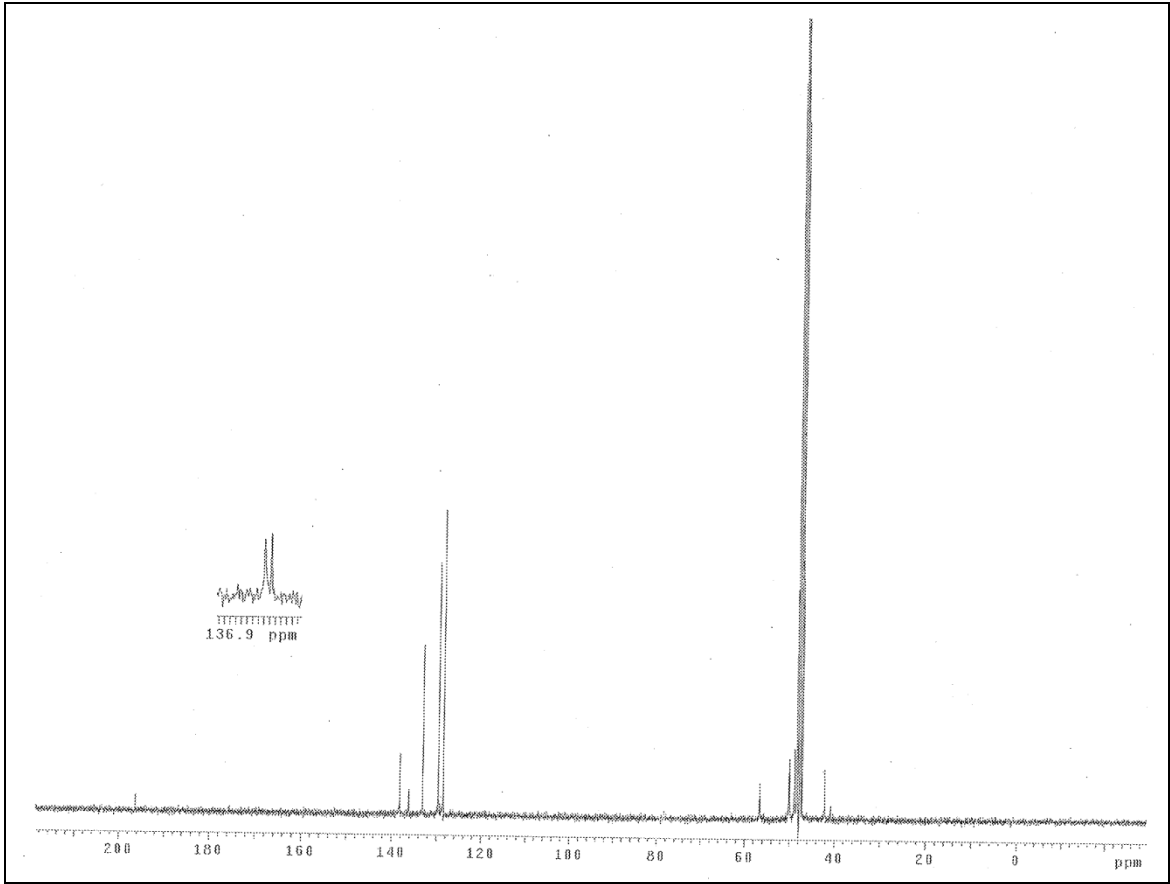
δ (ppm): 42.2, 48.8, 50.01, 56.6, 128.8, 129.7, 133.1, 136.2, 136.3, 138.2, 196.3

Kütle Spektrumu (Spektrum No 3 (a, b))

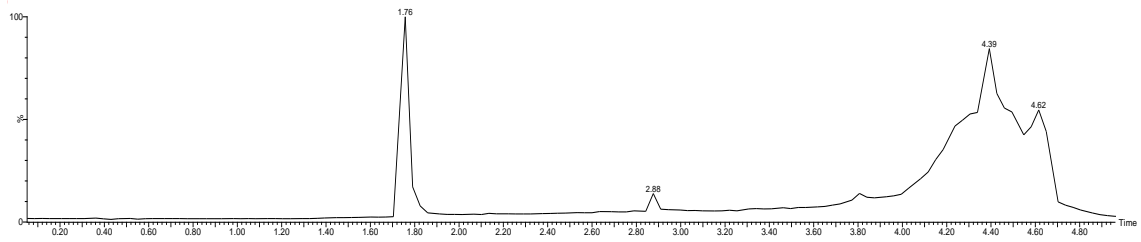
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) m/z : $M^+ + 1$ (245.16), $M^+ + 2$ (246.16).



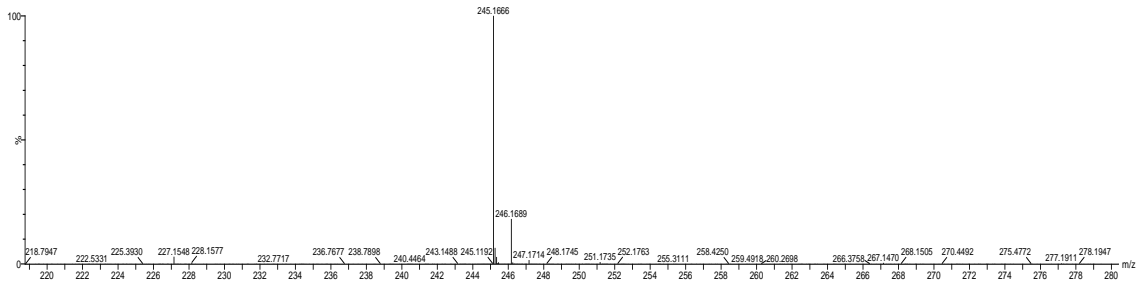
Spektrum No 1. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ^1H -NMR spektrumu



Spektrum No 2. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ^{13}C -NMR spektrumu



Spektrum No 3a. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

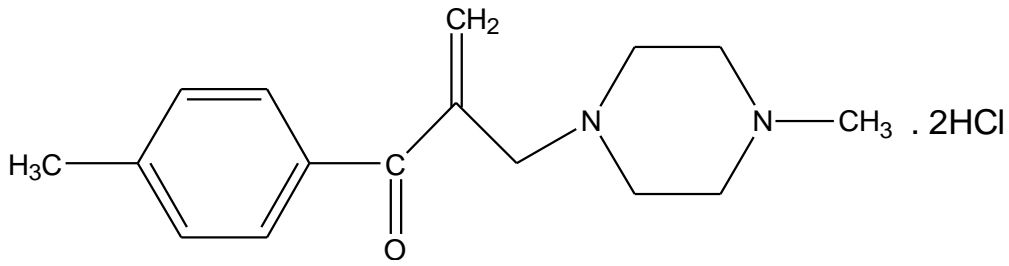


Spektrum No 3b. 1-Fenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.2. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on

dihidroklorür

4-Metilasetofenon (2 gr, 0.014 mol), paraformaldehit (0.88 g, 0.028 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.43 g, 0.014 mol) asetik asitteki (15 ml) karışımı çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃:MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 3.5 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.73 g, %15). Bileşiğin erime noktası 208-212°C'dir.



Şekil 21. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 4)

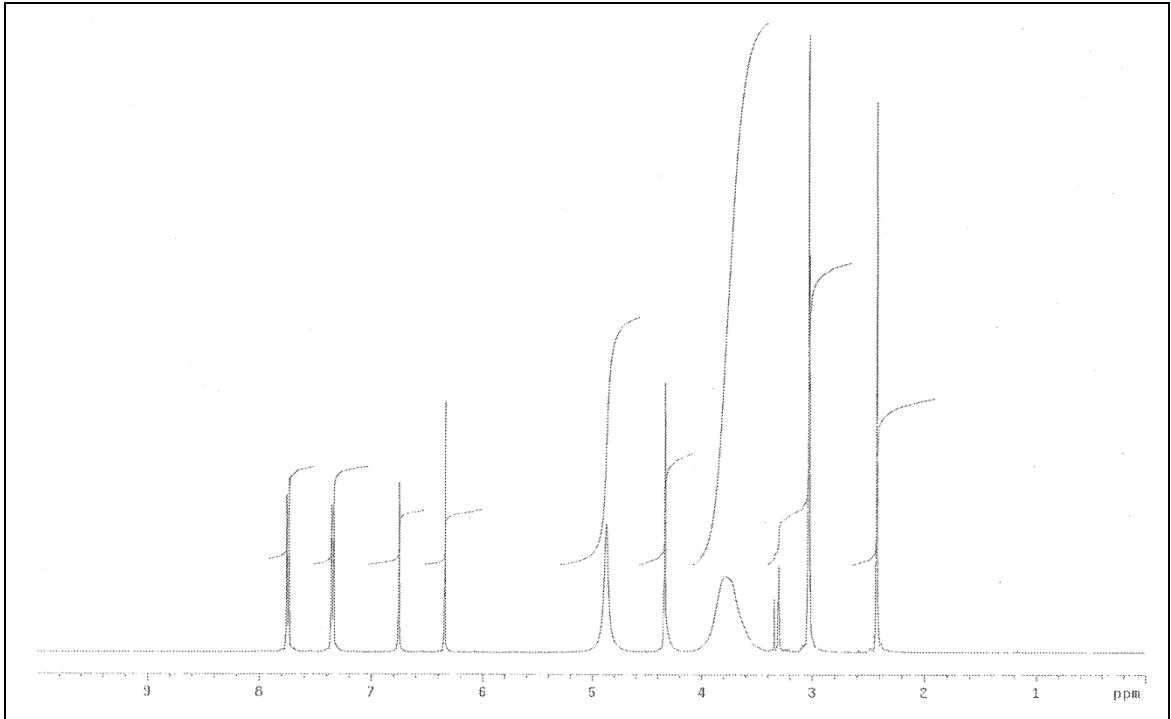
δ (ppm): 2.43 (3H, s), 3.03 (3H, s), 4.0-3.40 (8H, m), 4.34 (2H, s), 6.35 (1H, s),
6.76 (1H, s), 7.35 (2H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.75 (2H, d, $J = 8.2$ Hz)

¹³C NMR (CD₃OD) (Spektrum No 5)

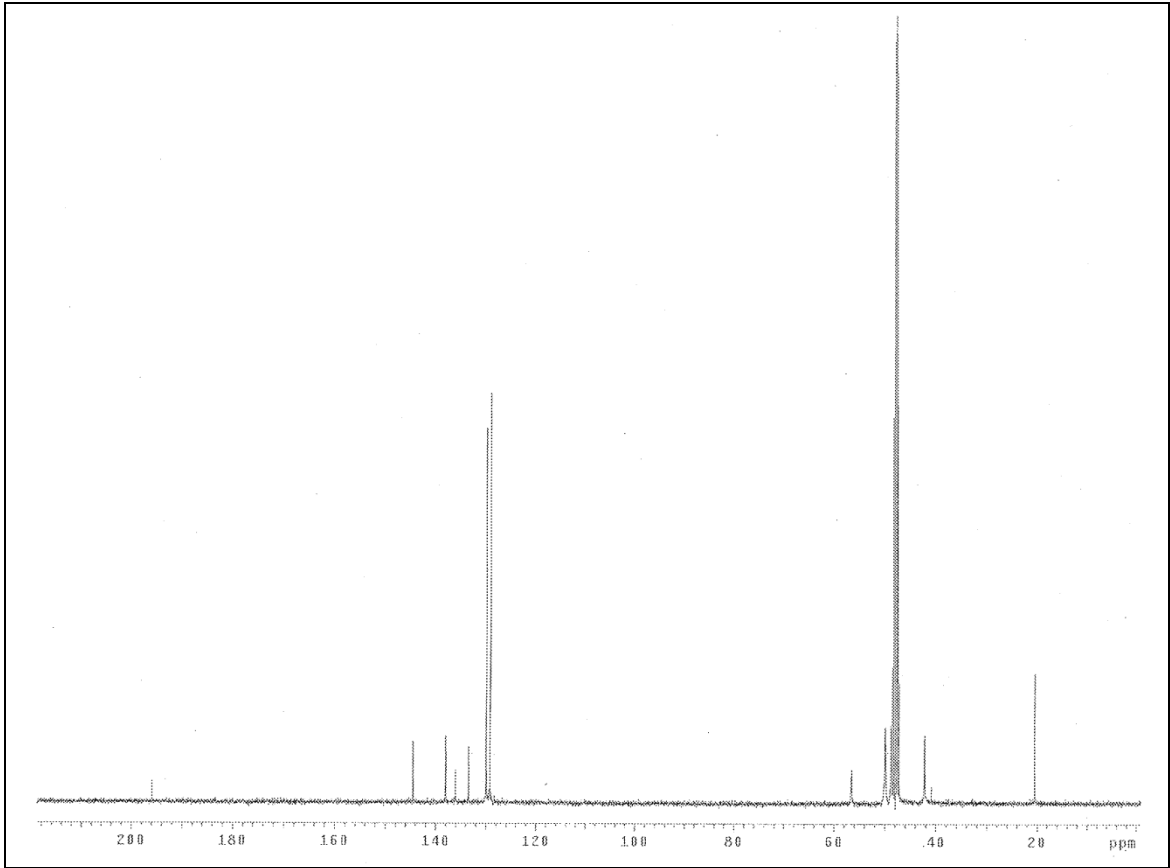
δ (ppm): 20.5, 42.2, 48.8, 49.9, 56.5, 129.2, 130.0, 133.4, 136.1, 138.0, 144.5,
195.9

Kütle Spektrumu (Spektrum No 6 (a, b))

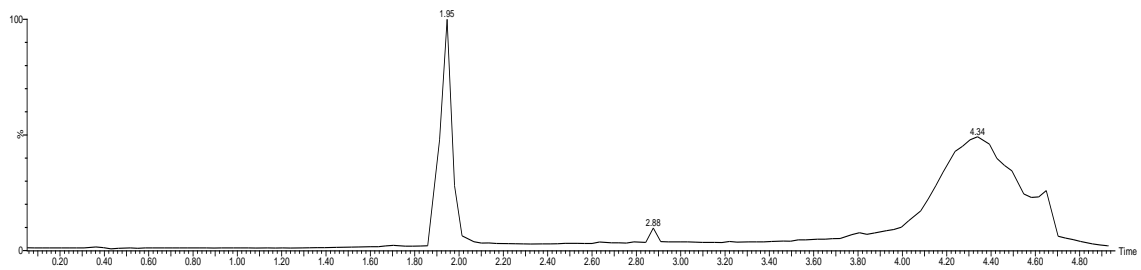
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) m/z : $M^+ + 1$ (259.18), $M^+ + 2$ (260.18).



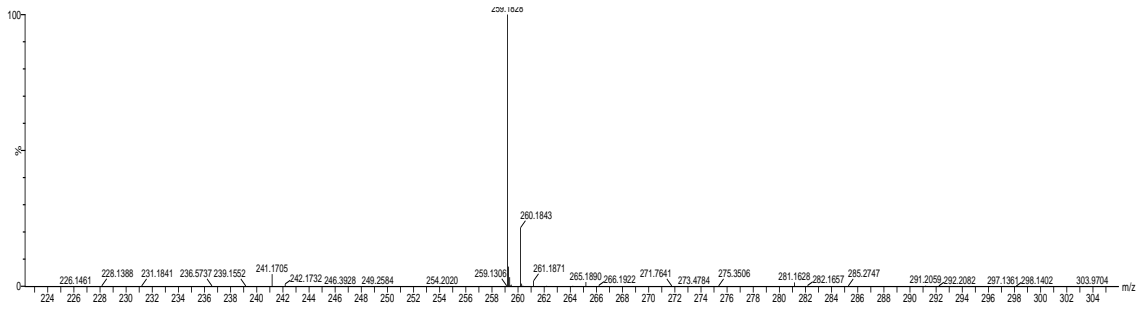
Spektrum No 4. 1-(4-Metilfenil-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹H-NMR spektrumu



Spektrum No 5. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ^{13}C -NMR spektrumu



Spektrum No 6a. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

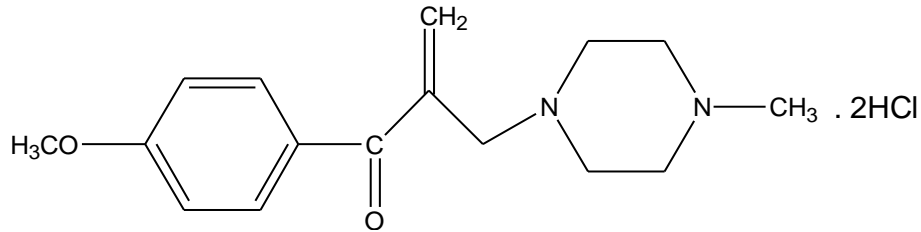


Spektrum No 6b. 1-(4-Metilfenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.3. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on

dihidroklorür

4-Metoksiasetofenon (2 gr, 0.013 mol), paraformaldehit (0.79 g, 0.026 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.29 g, 0.013 mol) asetik asitteki (24 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 3 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (1.01 g, %22). Bileşiğin erime noktası 214-218°C'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası 214-224°C'dir⁵.



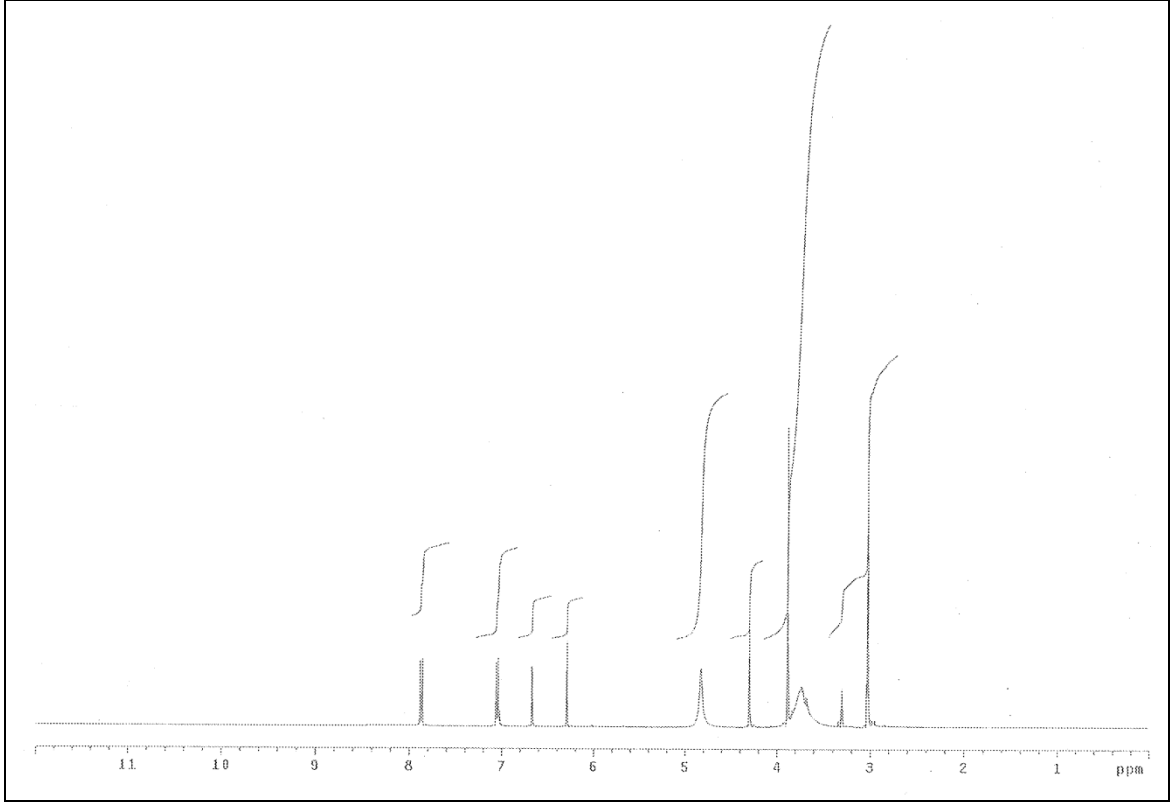
Şekil 22. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 7)

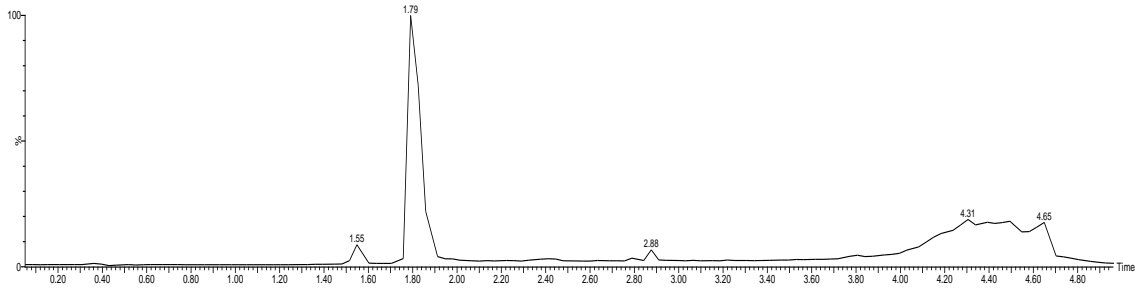
δ (ppm): 3.03 (3H, s), 3.88-3.66 (8H, m), 3.89 (3H, s), 4.29 (2H, s), 6.30 (1H, s), 6.67 (1H, s) 7.05, (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.87 (2H, d, *J* = 8.8 Hz)

Kütle Spektrumu (Spektrum No 8 (a, b))

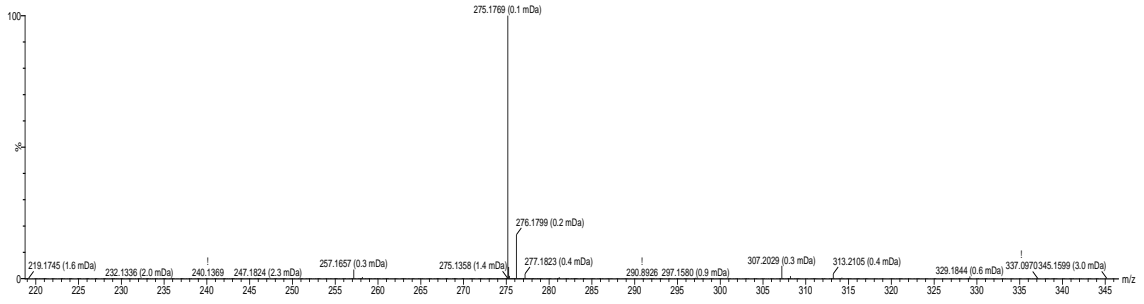
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (275.17), M⁺+2 (276.17).



Spektrum No 7. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹H-NMR spektrumu



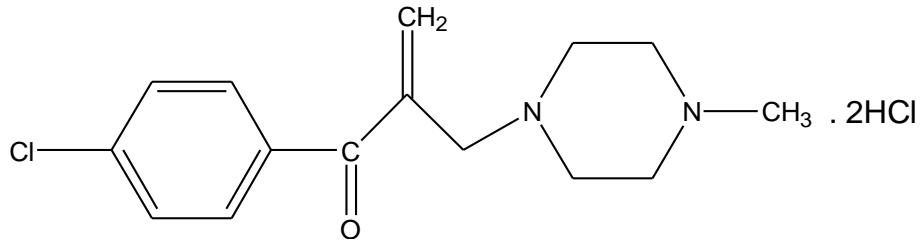
Spektrum No 8a. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 8b. 1-(4-Metoksifenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.4. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

4-Kloroasetofenon (2 gr, 0.012 mol), paraformaldehit (0.72 g, 0.024 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.08 g, 0.012 mol) asetik asitteki (22 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 1 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.86 g, %19). Bileşiğin erime noktası 218-220°C'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası 215-220°C'dir⁵.



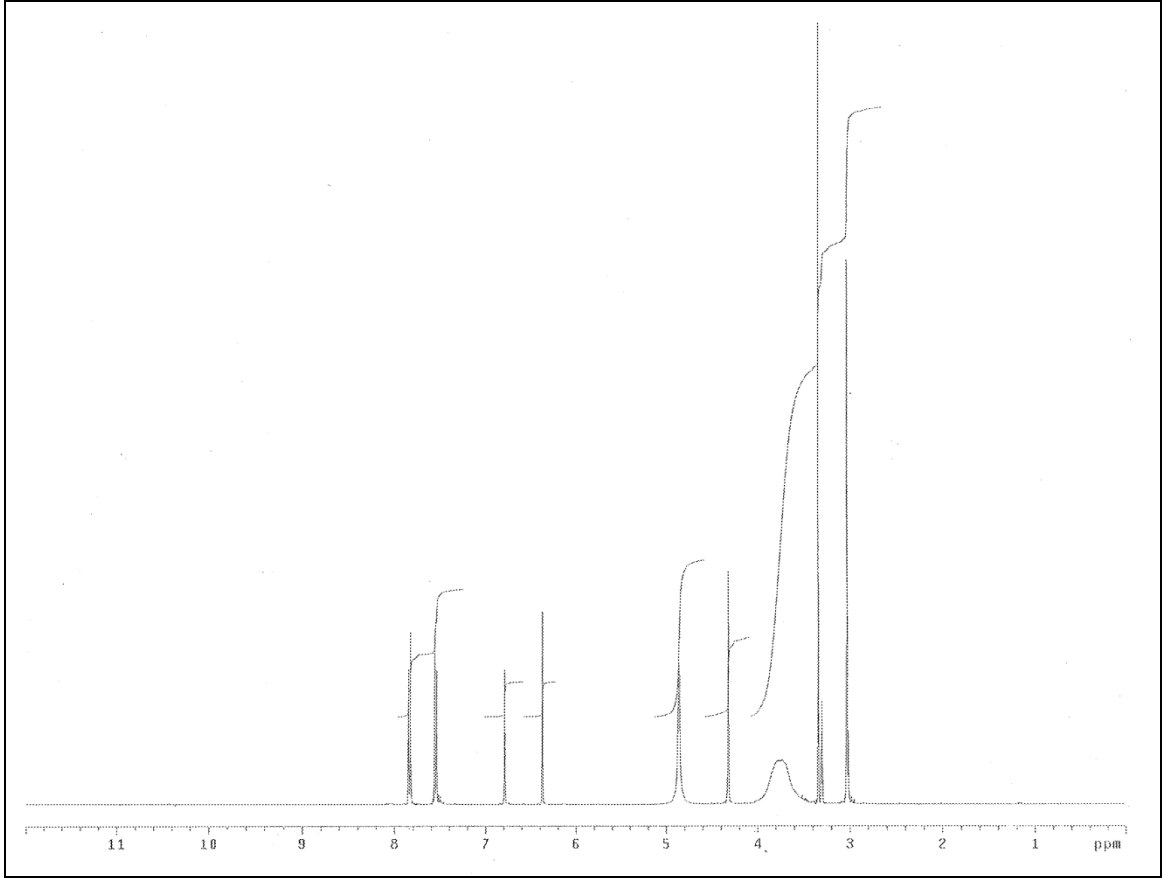
Şekil 23. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 9)

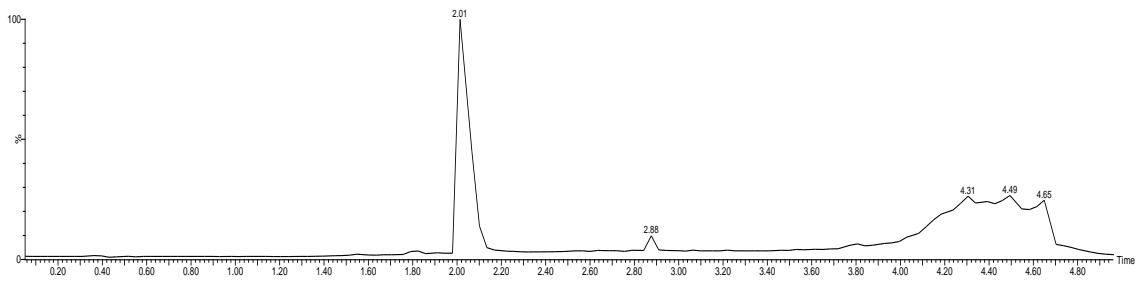
δ (ppm): 3.03 (3H, s), 3.85- 3.68 (8H, m), 4.32 (2H, s), 6.38 (1H, s), 6.79 (1H, s), 7.55 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.84 (2H, d, *J* = 8.4 Hz)

Kütle Spektrumu (Spektrum No 10 (a, b))

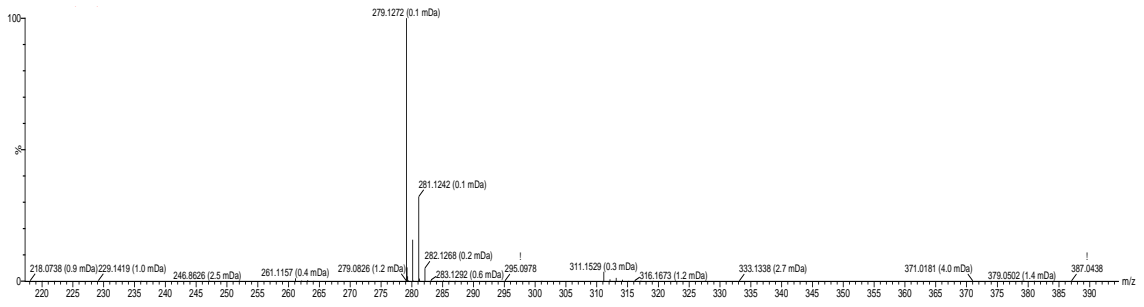
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (279.12), M⁺+3 (281.12).



Spektrum No 9. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



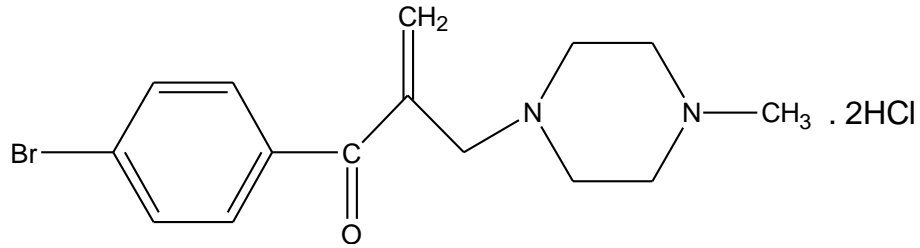
Spektrum No 10a. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 10b. 1-(4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.5. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

4-Bromoasetofenon (2 gr, 0.01 mol), paraformaldehit (0.6 g, 0.02 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (1.74 g, 0.01 mol) asetik asitteki (18 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃:MeOH: (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 4 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.91 g, %23). Bileşiğin erime noktası 220-222°C'dir.



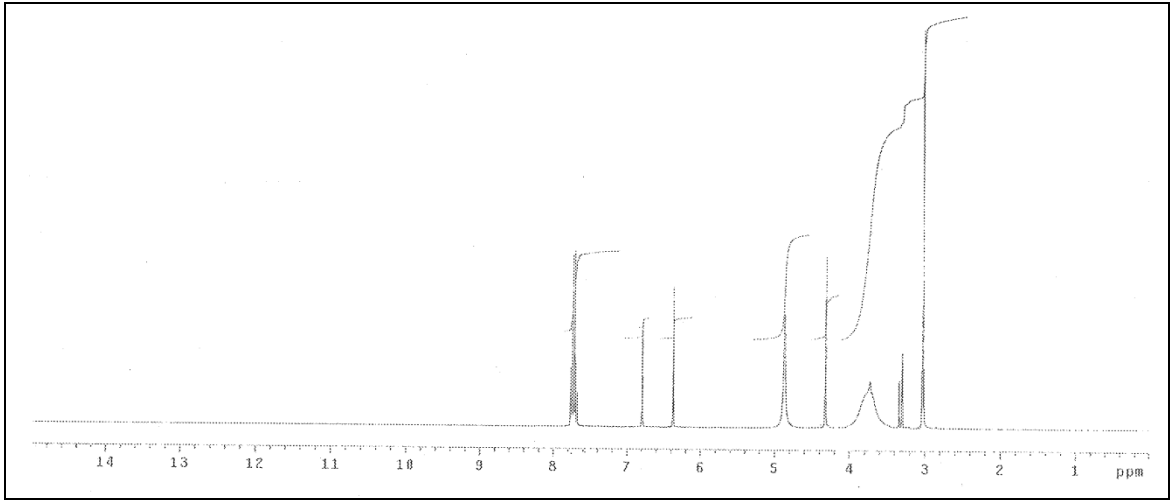
Şekil 24. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 11)

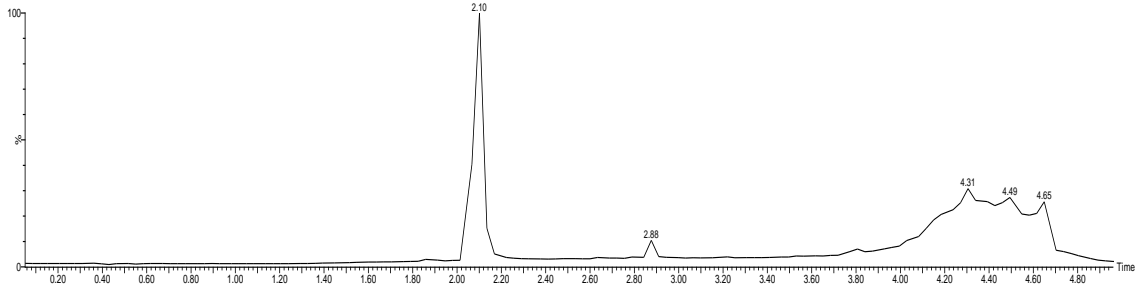
δ (ppm): 3.3 (3H, s), 3.74- 3.69 (8H, m), 4.22 (2H, s), 6.32 (1H, s), 6.71 (1H, s), 7.73 (2H, dd, *J* = 8.4, 1.5 Hz), 7.96 (2H, dd, *J* = 8.4, 1.5 Hz)

Kütle Spektrumu (Spektrum No 12 (a, b))

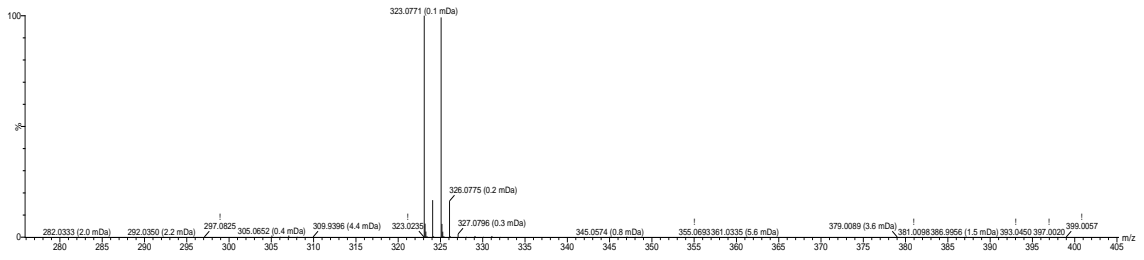
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (323.07), M⁺+2 (324.07), M⁺+3 (325.07), M⁺+4 (326.07)



Spektrum No 11. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹H-NMR spektrumu



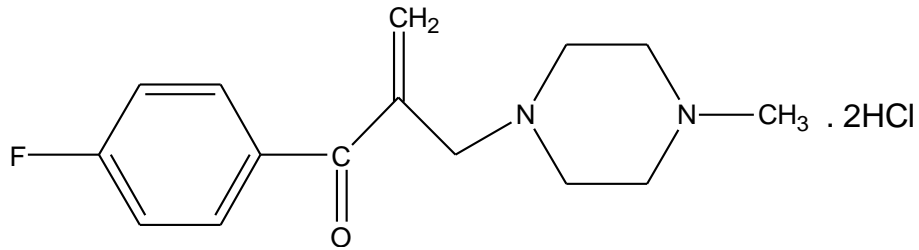
Spektrum No 12a. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 12b. 1-(4-Bromofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.6. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

4-Floroasetofenon (2 gr, 0.014 mol), paraformaldehit (0.86 g, 0.028 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.43 g, 0.014 mol) asetik asitteki (25 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH: (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 2.5 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (1.0 g, %22). Bileşiğin erime noktası 220-222°C'dir.



Şekil 25. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 13)

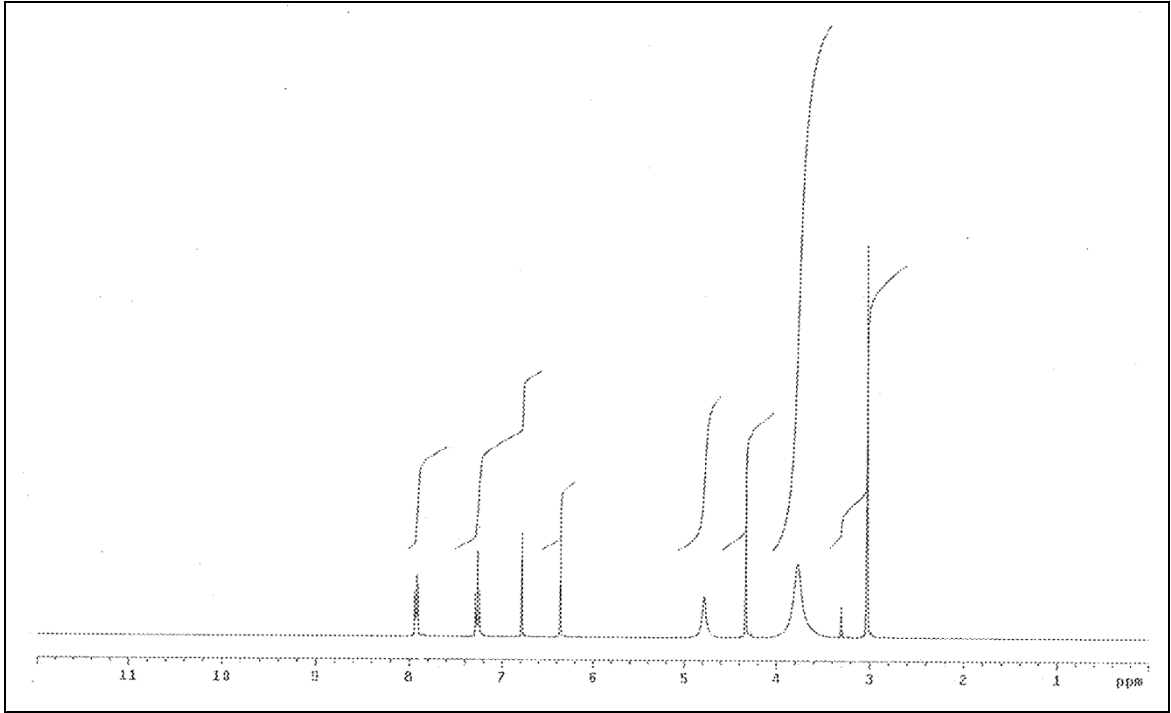
δ (ppm): 3.04 (3H, s), 3.96- 3.50 (8H, m) , 4.33 (2H, s), 6.36 (1H, s), 6.78 (1H, s), 7.26 (2H, t, $J_{HF} = 8.79$ Hz, $J_{HH} = 8.43$ Hz), 7.95-7.91 (2H, ddd, $J_{H_3H_2} = 7.7$ Hz, $J_{H_3H_4} = 2.2$ Hz, $J_{HF} = 5.6$ Hz)

^{13}C NMR (CD₃OD) (Spektrum No 14)

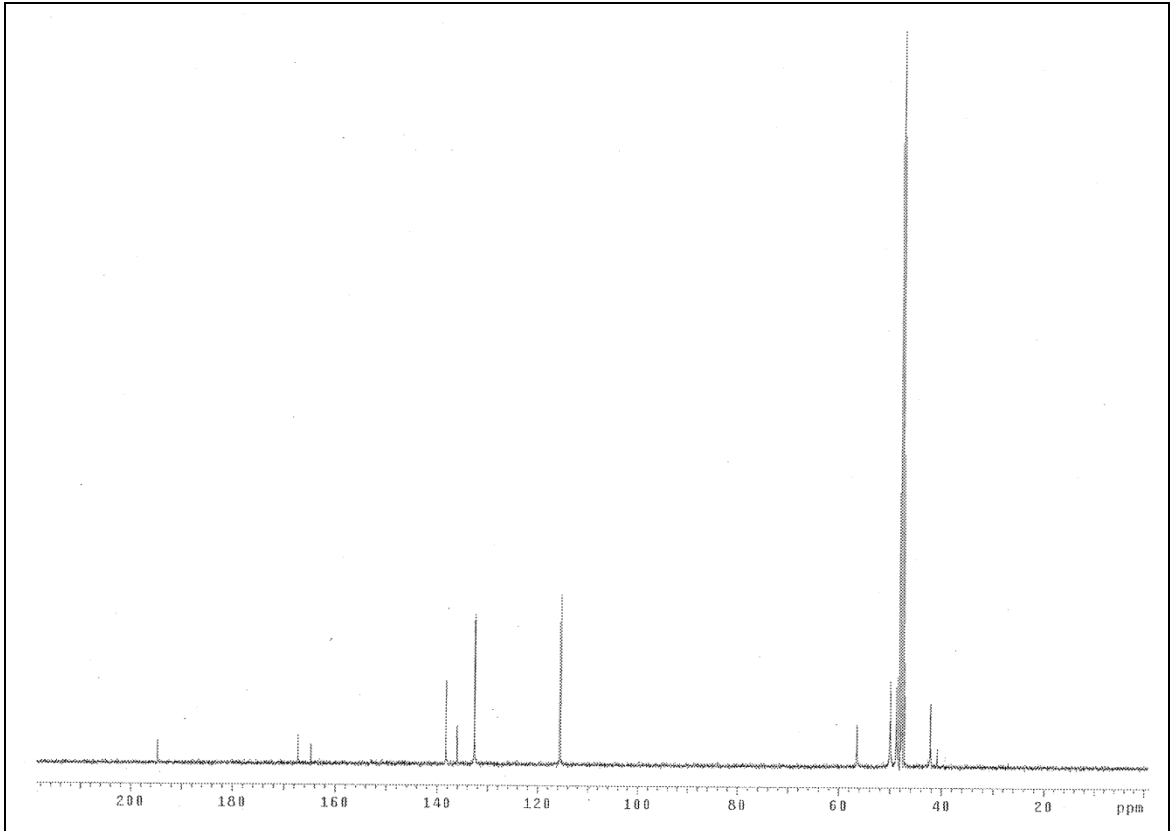
δ (ppm): 42.2, 48.8, 50.0, 56.4, 115.5 (d, 2 $J_{\text{C-F}}=22$ hz), 132.7 (d, 3 $J_{\text{C-F}}=9$ Hz),
136.1, 138.3, 164.7, 167.3, 194.7

Kütle Spektrumu (Spektrum No 15 (a, b))

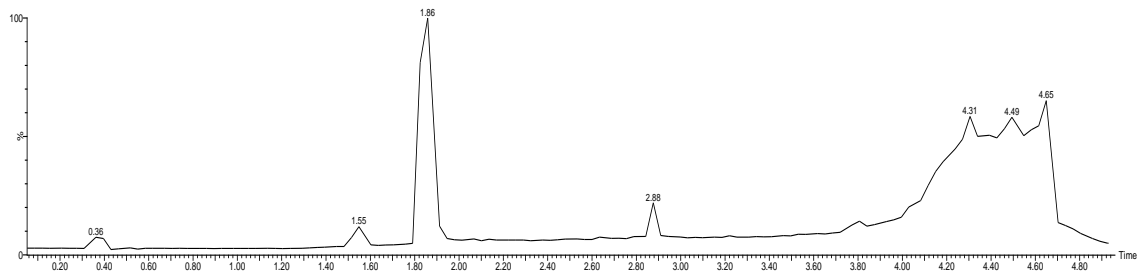
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) m/z : $M^+ + 1$ (263.15), $M^+ + 2$ (264.16), $M^+ + 3$ (265.16)



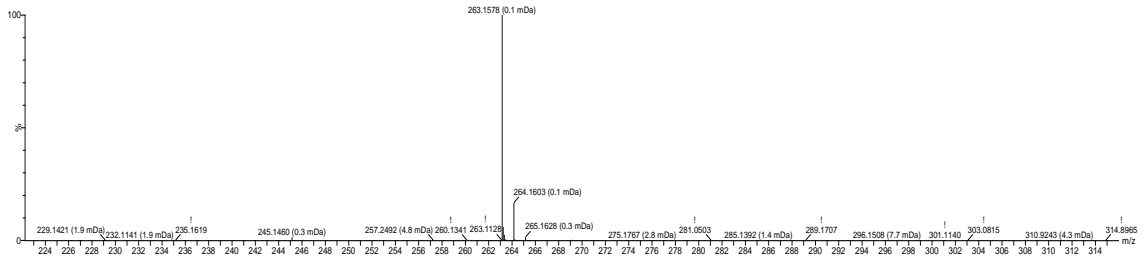
Spektrum No 13. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ^1H -NMR spektrumu



Spektrum No 14. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹³C-NMR spektrumu



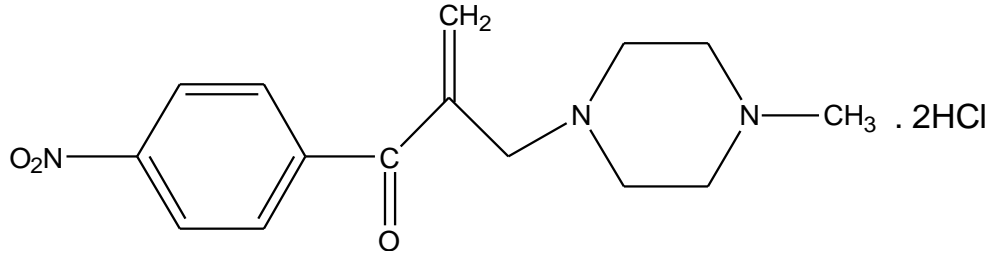
Spektrum No 15a. 1-(4-Florofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 15b. 1-(4-Fluorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.7. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

4-Nitroasetofenon (2 gr, 0.012 mol), paraformaldehit (0.72 g, 0.024 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.08 g, 0.012 mol) asetik asitteki (21 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 3 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.96 g, %22). Bileşiğin erime noktası 228-230°C'dir



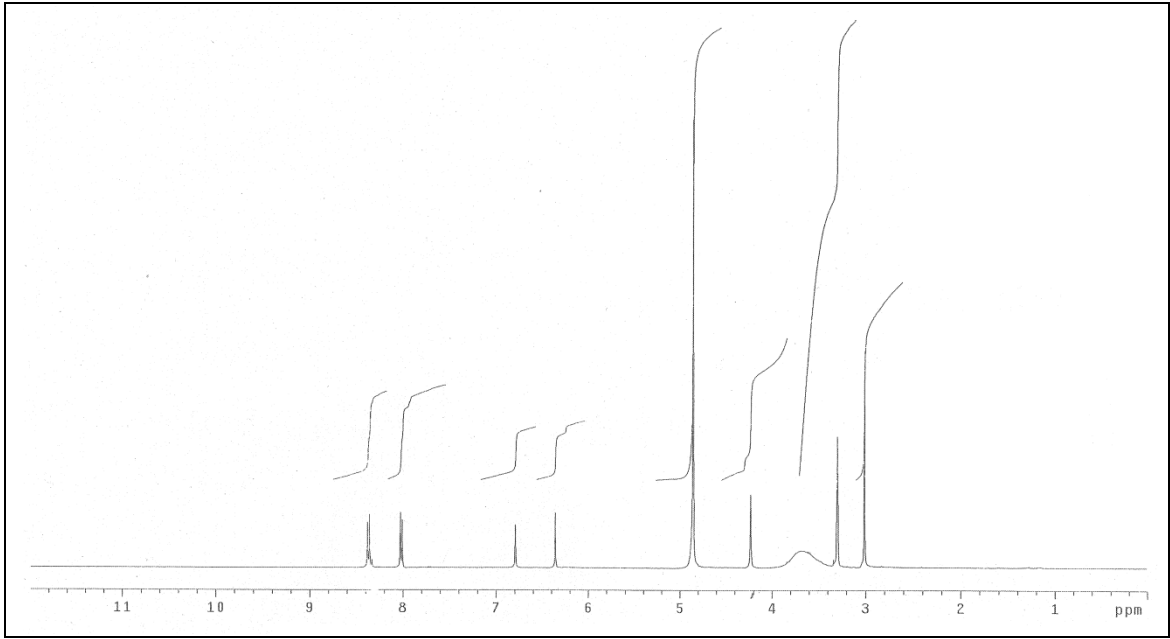
Şekil 26. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 16)

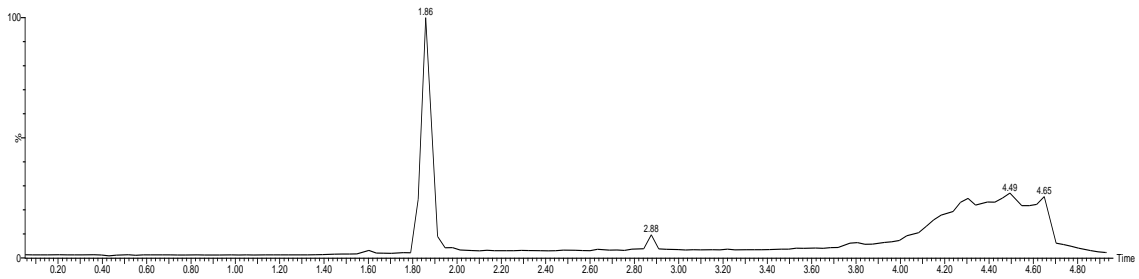
δ (ppm): 3.02 (3H, s), 3.69- 3.29 (8H, m), 4.23 (2H, s), 6.36 (1H, s), 6.80 (1H, s), 8.02 (2H, d, *J* = 7.0 Hz), 8.37 (2H, d, *J* = 7.0Hz).

Kütle Spektrumu (Spektrum No 17 (a, b))

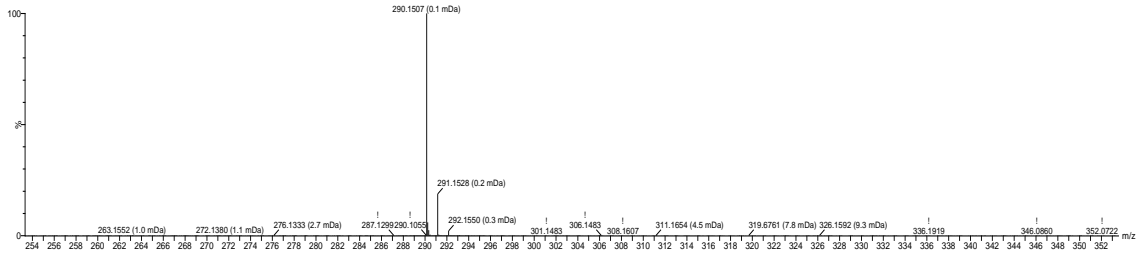
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (290.15), M⁺+2 (291.15), M⁺+3 (292.15)



Spektrum No 16. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu



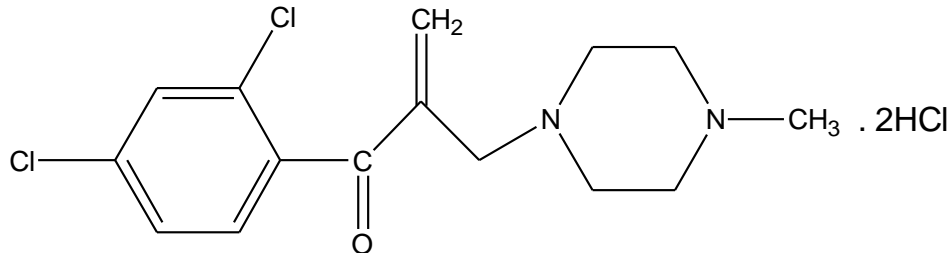
Spektrum No 17a. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 17b. 1-(4-Nitrofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.8. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

2,4 Dikloroasetofenon (2 gr, 0.01 mol), paraformaldehit (0.6 g, 0.02 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (1.74 g, 0.01 mol) asetik asitteki (18 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 2.5 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (0.65 g, %16). Bileşiğin erime noktası 228-230°C'dir.



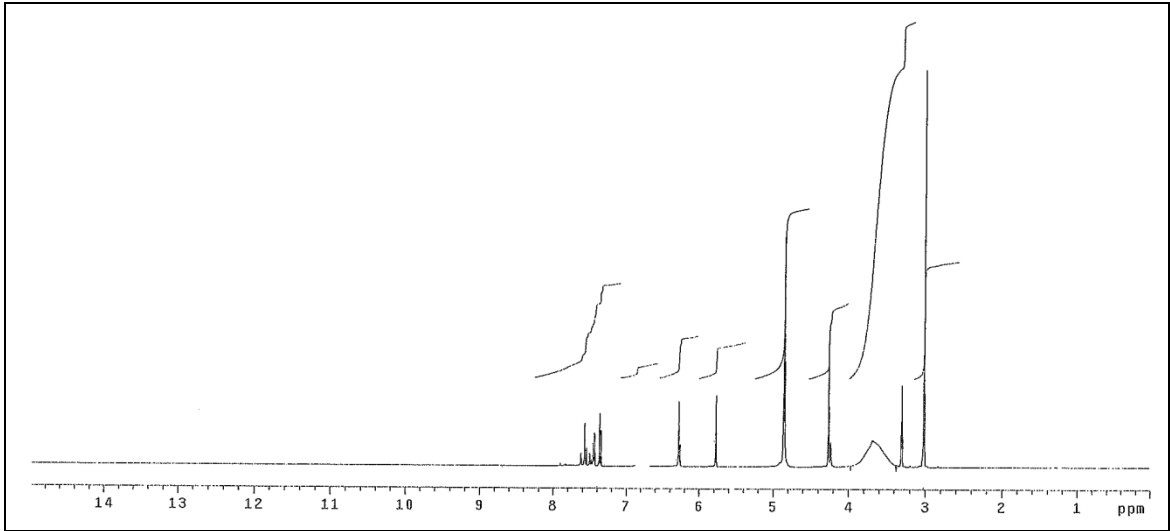
Şekil 27. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 18)

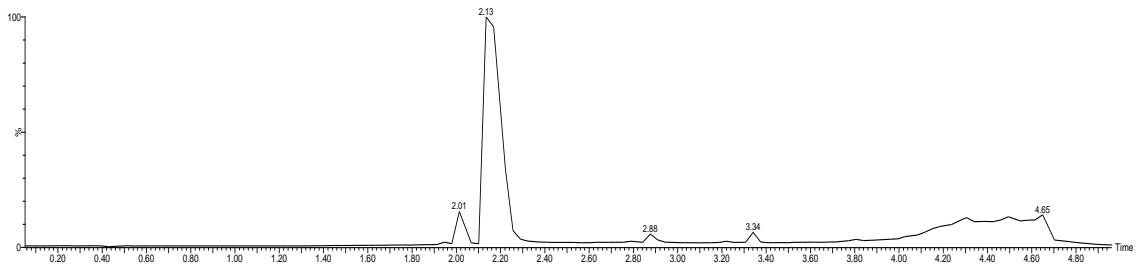
δ (ppm): 3.01 (3H,s), 3.71- 3.31 (8H, m), 4.26 (2H, s), 5.77 (1H, s), 6.26 (1H, s), 7.35 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.44 (1H, dd, *J* = 8.2Hz, *J* = 2.2), 7.56 (1H, d *J* = 2.2 Hz)

Kütle Spektrumu (Spektrum No 19 (a, b))

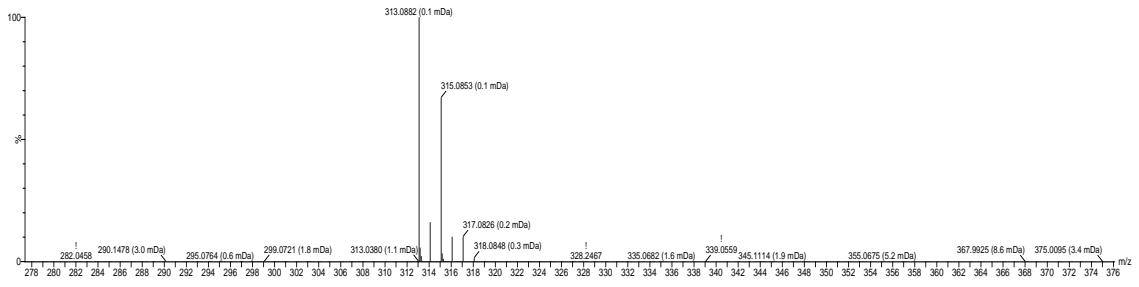
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (313.08), M⁺+3 (316.06)



Spektrum No 18: 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ^1H -NMR spektrumu



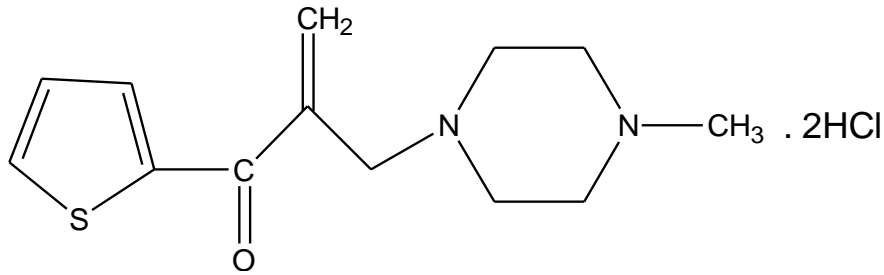
Spektrum No 19a. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



Spektrum No 19b. 1-(2,4-Klorofenil)-2-(4-metilpiperazin-1-il-metil)-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.2.1.9. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il -2-propen-1-on dihidroklorür

2-Asetiltiyofen (2 gr, 0.016 mol), paraformaldehit (0.95 g, 0.032 mol) ve N-metil piperazin dihidroklorür'ün (2.78 g, 0.016 mol) asetik asitteki (29 ml) karışımı geri çeviren soğutucu altında yağ banyosunda 120°C'da ısıtıldı. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. CHCl₃: MeOH (8:2) çözücü sistemi kullanılarak ve 200 MHz ¹H-NMR'ı alınarak reaksiyonun yürüyüşü gözlemlendi. Elde edilen İ.T.K ve ¹H-NMR sonuçlarına göre reaksiyon 3 saatte sonlandırıldı. Reaksiyon balonunun içeriği düşük basınç altında damıtıldı. Balon içerisindeki viskoz madde eterle yıkandı. Oluşan katı madde süzülerek ayrıldı. Daha sonra katı madde metanol-eterden 3-4 kez kristallendirildi. Kristaller süzülerek ayrıldı, eter ile yıkandı ve açık havada kurutuldu. (1.17 g, %23). Bileşiğin erime noktası 217-219°C'dir.



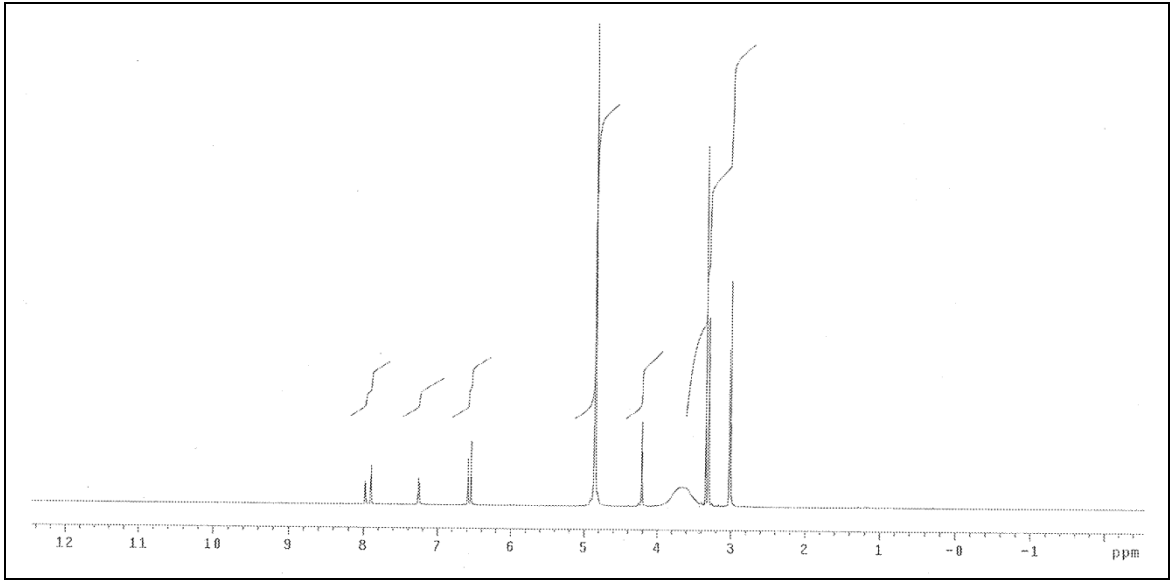
Şekil 28. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür

¹H NMR (CD₃OD) (Spektrum No 20)

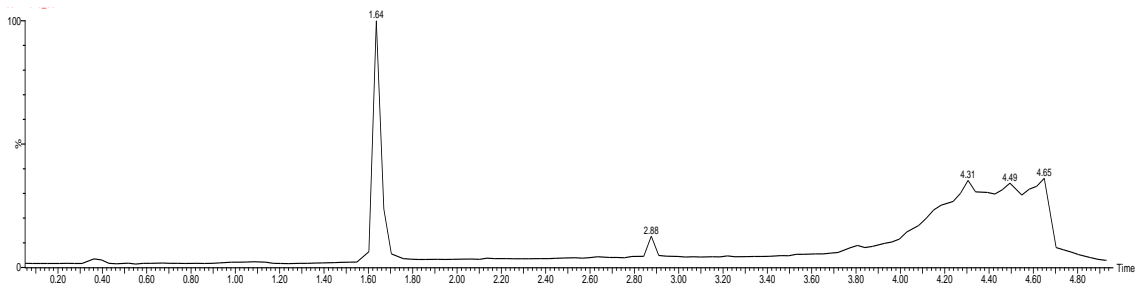
δ (ppm): 3.03 (3H, s), 3.69- 3.59 (8H, m), 4.31 (2H, s), 6.60 (1H, s), 6.68 (1H, s), 7.25 (1H, dd, *J* = 4.8 , 3.7), 7.91 (1H, dd, *J* = 3.7, 1.1 Hz), 7.97 (1H, dd, *J* = 4.8, 1.1 Hz)

Kütle Spektrumu (Spektrum No 21 (a, b))

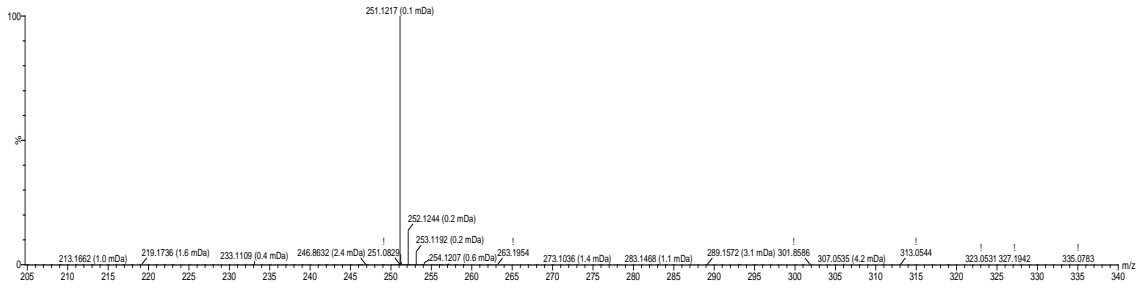
TOF MS [ES(-)](CHCl₃) *m/z*: M⁺+1 (251.12), M⁺+2 (252.12), M⁺+3 (253.12)



Spektrum No 20: 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün ¹H-NMR spektrumu



Spektrum No 21a. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu



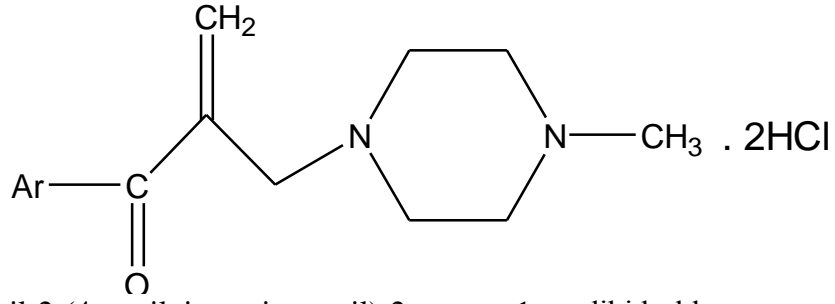
Spektrum No 21b. 2-(4-Metilpiperazin-1-il-metil)-1-tiyofen-2-il-2-propen-1-on dihidroklorür'ün kütle spektrumu

4.3. Sitotoksik Aktivite Testi

Bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, Hep-3B (karaciğer kanseri) hücre hatlarına karşı hücre proliferasyonu testi yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Bileşiklerin sitotoksikite sonuçları Tablo 3’de verilmiştir.

Materyal: Dulbecco’s Modified Eagle Medium IX (DMEM) (Sigma, UK), %25 trypsin-edta (Gibco-invitrogen, UK), Phosphate Buffered Saline (PBS) (Gibco-invitrogen, UK), Dimetil Sülfoksit (DMSO) (Sigma, USA), 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil) (MTS powder) (Promega, UK), Phenazine methosulfate (PMS) (Sigma, USA) kullanılmıştır.

Yöntem: Hücrelerin sitotoksikite değerlendirmesi, hücre proliferasyonu testi, MTS (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil) tetrazolium, (CellTiter 96 Aqueous One Solution Assay) testi ile 96 kuyucuklu kültür kaplarında yapılmıştır. Öncelikle hücreler, her bir kuyucukta 4000 hücre olacak şekilde 100 µL besiyeri içerisinde 96 kuyucuklu kültür kaplarına ekilip 24 saat büyümeye bırakılmıştır. Ertesi gün, bu besiyeri uzaklaştırılmış ve üzerine 1. gün için; 6 farklı konsantrasyonda (100 µM, 50 µM, 25 µM, 12.5 µM, 6.25 µM, 3.125 µM) hazırlanmış Schiff bazı bakır kompleksi, 80 µl besiyeri içinde, 2. gün için; 160 µl ve 3. gün için; 240 µl besiyeri içinde hücrelere eklenmiştir. Standart olarak 5-Fluorourasil (5-FU) ilacı aynı konsantrasyonlarda hücrelere verilmiştir. Negatif kontrol olarak yalnız besiyeri kullanılmış ve pozitif kontrol olarak ise %20 DMSO kullanılmıştır. İnkübasyon süreleri bittiğinde kuyucuklardaki besiyeri uzaklaştırılmış ve 10 µl MTS+100 µl besiyeri olacak şekilde bu kuyucuklara eklenmiştir. MTS ile maruz bırakılan hücreler 3 saat inkübasyona bırakılmıştır ve inkübasyon sonrasında hücre canlılığı 490 nm’de otomatik petri okuyucu (Elisa pleyt okuyucusu) ile değerlendirilmiştir.



Tablo 3. (1-9) Bileşiklerin sitotoksisite sonuçları

Bileşik No	Ar	LC ₅₀ (µm)
1	C ₆ H ₅	48.56
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	24.56
3	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	40.88
4	4-ClC ₆ H ₄	54.93
5	4-BrC ₆ H ₄	111.78
6	4-FC ₆ H ₄	75.56
7	4-NO ₂ C ₆ H ₄	83.24
8	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	110.48
9	C ₄ H ₃ S (2-il)	41.49
5-FU		73.44

5. BULGULAR

Tablo 2. Sentezlenen Bileşiklerin Deneysel Verileri

Bileşik No	Aril (Ar)	Keton (mmol)	Paraformaldehit (mmol)	Amin tuzu (mmol)	Asetik Asit (ml)	Reaksiyon Süresi (saat)	Verim (%)	Erime Noktası (°C)	Literatür Erime Noktaları (°C)
1	C ₆ H ₅	17	34	17	15	2 s	17	218-220	231-233 ⁵
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	14	28	14	15	3.5 s	15	208-210	
3	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	13	26	13	24	3 s	22	214-218	214-224 ⁵
4	4-ClC ₆ H ₄	12	24	12	22	1 s	19	218-220	215-220 ⁵
5	4-BrC ₆ H ₄	10	20	10	18	4 s	23	220-222	
6	4-FC ₆ H ₄	14	28	14	25	2.5 s	22	220-222	
7	4-NO ₂ C ₆ H ₄	12	24	12	21	3 s	22	228-230	
8	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	10	20	10	18	2.5	16	228-230	
9	C ₄ H ₃ S (2-il)	16	32	16	29	3 s	23	217-219	

Tablo 3. (1-9) Bileşiklerin Sitotoksosite Sonuçları

Bileşik No	Ar	LC ₅₀ (µm)
1	C ₆ H ₅	48.56
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	24.56
3	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	40.88
4	4-ClC ₆ H ₄	54.93
5	4-BrC ₆ H ₄	111.78
6	4-FC ₆ H ₄	75.56
7	4-NO ₂ C ₆ H ₄	83.24
8	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	110.48
9	C ₄ H ₃ S (2-il)	41.49
5-FU		73.44

6. TARTIŞMA ve SONUÇ

6.1. Sentez ve Spektral Analizler

Sentezlenen bileşiklerden nonsübstitüe bileşik **1**⁵, *p*-metoksilli bileşik **3**⁵ ve *p*-klorlu bileşik **4**⁵ kayıtlı olmakla birlikte; bileşik **2**, **5**, **6**, **7**, **8** ve **9** ilk kez bu çalışma ile rapor edilmektedir. Sentezlenen bileşiklerin detaylı spektral analizleri ve sitotoksik etkileri (Tablo 3) ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir.

Bu bileşikler bölüm 4'te belirtilen sentez yöntemiyle sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentezleri için rapor edilen ısıtma süreleri çeşitli denemelerden sonra bulunan en ideal sürelerdir. Reaksiyonların yürüyüşü İTK ile izlendiği gibi, ¹H-NMR ile de izlenmiştir. Zira çalışılan deneysel koşullar altında hem bizim istediğimiz ve bu çalışmada rapor ettiğimiz akrilofenon tipi bileşikler, hem de 3-amino-1-aril-1-propanon dihidroklorür tipi bileşikler olduğu ¹H-NMR spektrumundan anlaşılmıştır. Isıtma sürelerine bu sebeple reaksiyonların ¹H-NMR ile izlenmesi ile karar verilmiştir. Metoksilli bileşik **3**'ün sentezleme çalışmaları sırasında 3-(4-metilpiperazin-1-il)-1-(4-metoksifenil)-1-propanon dihidroklorür tipi doymuş Mannich bazı %15 verimle ele geçmiştir. Sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri Tablo 2'de özetlenmiştir. Bileşiklerin kimyasal yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR, TOF-MS ile doğrulanmıştır. **1**, **3**, **4** nolu bileşiklerin erime noktaları literatürde kayıtlıdır⁵. Rapor edilen erime noktaları bileşik **1** için 231-233°C (metanol), bileşik **3** için 214-224°C (etanol), bileşik **4** için 215-220°C (izopropanol) dır⁵. Bizim bu maddeleri metanolden kristallendirdikten sonra bulduğumuz erime noktaları ise bileşik **1** için 218-220°C, bileşik **3** için 214-218°C, bileşik **4** için 218-220°C'dır. Bulunan ve rapor edilen erime noktaları arasındaki farklılıklar kullanılan kristallendirme çözücülerinin farklılığından kaynaklanabilir.

Bu bileşiklerden yalnızca **1** nolu bileşiğe ait elementel analiz sonuçlarına rastlanmıştır⁵. Bu çalışmada rapor edilen 9 adet bileşiğe ait detaylı NMR spektrumları (¹H-NMR spektrumları bileşik **1-9** için; ¹³C-NMR spektrumları ise bileşik **1, 2, 6** için); TOF-MS spektrumları da (bileşik **1-9** için) ilk kez bu çalışma ile ilgili deneysel bölümde verilmiştir.

Bu çalışma ile ilk kez rapor edilen bileşik **2** örnek olarak ele alındığında ¹ H-NMR spektrumunda (Spektrum No 4) N-Metil piperazin halkasına ait protonlar δ 4.0-3.40 ppm aralığında 8 protonluk broad singlet pik olarak gözlenmiştir. N-Metil piperazinin 4 numaralı azotuna bağlı CH₃ grubuna ait 3 proton değerinde singlet δ 3.03 ppm'de, metilen grubuna ait 2 proton değerindeki singlet δ 4.34 ppm'de gözlenmiştir. Bileşik **2**'de bulunan olefinik protonlar yapıyla uyumlu olarak δ 6.35 ve 6.76 ppm'de birer proton değerinde singlet olarak gözlenmiştir. Fenil halkasına ait protonlar δ 7.35 ve 7.75 ppm'de iki ayrı dublet şeklinde gözlenmiştir. Bu protona ait *J* değerleri 8.2 ve 8.2 Hz olarak bulunmuştur. Fenil halkasına para konumunda bağlı olan 3 proton değerindeki CH₃ protonları δ 2.43 ppm'de singlet olarak gözlenmiştir.

2 Bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumunda (Spektrum No 5) Mannich bazı yapısına ait N-metil piperazinometil grubu için gözlenen kimyasal kayma değerleri N-metilpiperazin halkası için δ 48.8 ve 49.9 ppm, N-metil grubu için δ 42.2 ppm'de, aromatik halkaya bağlı metil karbonu için δ 20.5 ppm'de, olefinik karbonlara komşu metilen karbonu için δ 56.5 ppm'de, olefinik gruba ait karbon sinyalleri δ 129.2 ve 144.5 ppm'de, aromatik halka karbonları δ 130.0, 133.4, 136.1 ve 138.0 ppm'de, karbonil grubuna ait sinyal de δ 195.9 ppm'de gözlenmiştir ve yapı ile uyumludur.

Benzer şekilde bileşik **6** da ele alınıp incelendiğinde, ¹ H-NMR spektrumunda (Spektrum No 13) N-Metil piperazin halkasına ait protonlar δ 3.96-3.50 ppm aralığında

8 protonluk broad singlet pik olarak gözlenmiştir. N-Metil piperazinin 4 numaralı azotuna bağlı CH₃ grubuna ait 3 proton değerinde singlet δ 3.04 ppm'de, metilen grubuna ait 2 proton değerindeki singlet δ 4.33 ppm'de gözlenmiştir. 6 bileşiğinde bulunan olefinik protonlar yapıyla uyumlu olarak δ 6.36 ve 6.78 ppm'de birer proton değerinde singlet olarak gözlenmiştir. Fenil halkasına ait protonlar δ 7.26 ppm'de H-F ve H-H etkileşmelerinden dolayı triplet olarak gözlenmiştir. *J* değerleri 8.79 ve 8.43 Hz'dir. δ 7.95- 7.91 ppm'de yine H-F ve H-H etkileşmesinden dolayı dubletin dubletinin dubleti gözlenmiştir. Bu protonlara ait *J* değerleri 7.7, 2.2 ve 5.6 Hz'dir.

6 Bileşiğinin ¹³C-NMR spektrumunda (Spektrum No 14) Mannich bazı yapısına ait N-metil piperazinometil grubu için gözlenen kimyasal kayma değerleri N-metilpiperazin halkası için δ 48.8 ve 50.0 ppm, N-metil grubu için δ 42.2 ppm'de, olefinik karbonlara komşu metilen karbonu için δ 56.4 ppm'de, olefinik gruba ait karbon sinyalleri δ 136.1 ve 164.7 ppm'de, aromatik halka karbonları δ 115.5, 132.7, 138.3 ve 167.3 ppm'de, karbonil grubuna ait sinyal de δ 194.7 ppm'de gözlenmiştir ve yapı ile uyumludur.

Bileşiklerin TOF-MS ile alınan kütle spektrumlarında bileşiklerin baz formu ile uyumlu olarak bileşik **2** için M⁺+1 (259.18), M⁺+2 (260.18) ve bileşik **6** için M⁺+1 (263.15), M⁺+2 (264.16), M⁺+3 (265.16) olarak gözlenmiştir. Bu belirtilen değerler de yapıyı doğrular niteliktedir.

6.2. Sentezlenen Mannich Bazlarının HEP-3B Hücre Hattına Karşı Sitotoksik Aktiviteleri

Sentezlenen bileşiklerin karaciğer kanseri (HEP-3B) hücre hattına karşı sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Test edilen bileşiklerden nonsüstitüe bileşik **1** (1.51 kat), *p*-metilli bileşik **2** (2.99 kat), *p*-metoksi türevi bileşik **3** (1.80 kat), *p*-klorlu türevi bileşik **4** (1.34 kat) ve aromatik grup olarak tiyofen halkası içeren bileşik **9** (1.77 kat) HEP-3B hücre hattına karşı 5-FU'den daha güçlü, *p*-florlu **6** nolu bileşik 5-FU'e benzer (0.97 kat) sitotoksik aktivite gösterirken; *p*-bromo türevi bileşik **5**, *p*-nitro türevi bileşik **7** ve 2,4 dikloro türevi bileşik **8** ise 5-FU'den daha düşük sitotoksosite göstermiştir. HEP-3B hücre hattına karşı test edilen bileşiklerden sitotoksitesi en güçlü olan bileşik *p*-metilli türev bileşik **2**'dir.

Süstitüentin yapısına oksijen gibi heteroatomun girmesi, yani bileşiğin polaritesinin artırılması sitotoksiteyi **2** nolu bileşiğe kıyasla bileşik **3** ve **7** de olumsuz yönde etkilemiş, sitotoksite oksijen atomu sayısı arttıkça daha da düşmüştür. Halojenli türevler içinde sitotoksitesi en güçlü olan klorlu bileşik **4**'dür. Fenil ve tiyofen halkaları biyoizosterik halkalardır.

Aromatik halkanın fenilden tiyofene değişmesi sitotoksiteyi arttırmıştır. Aromatik halkanın tiyofen olduğu bileşik **9** ve hem *orto* hem de *para* konumunda süstitüent taşıyan bileşik **8** dışta bırakılarak; **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7** nolu bileşiklerin sitotoksiteleri ile süstitüentlerin elektronik etkisini temsil eden Hammett (σ) ve hidrofobik etkisini temsil eden Hansch (π) değerleri arasında bir korelasyon olup olmadığı SPSS programı kullanılarak araştırılmıştır. Sitotoksite ve π değerleri arasında bir korelasyon bulunmamıştır (Pearson Korelasyon Katsayısı= 0.22, P= 0.64). Ancak,

bileşiklerin sitotoksitesini ifade eden LC_{50} değeri ile Hammett değeri arasında muhtemelen gözlem sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmayan pozitif korelasyon vardır (Pearson Korelasyon Katsayısı= 0.63, P= 0.13). Bu, bileşiğin Hammett değeri ne kadar düşük olursa o kadar çok sitotoksik olabileceği anlamına gelebilir, çünkü bileşiğin LC_{50} değeri ne kadar küçük ise o bileşik o kadar sitotoksiktir anlamına gelir.

Bileşiklerin gözlenen sitotoksik aktiviteleri bileşiklerin kendi fizikokimyasal özelliklerinden, hedef yörede reseptörle etkileşmesindeki farklılıklardan, bileşiklerin nükleofillerle etkileşimindeki farklılıklarından, meydana gelen bileşik tiyol katım ürününün deaminasyonla yeni alkilasyon merkezi üretebilme yeteneği olup olmamasından veya deaminasyon oranının optimum düzeyde olup olmamasından kaynaklanabilir.

Sonuç olarak, 5-FU'den daha güçlü sitotoksikite gösteren bileşikler olan bileşik **1**, **2**, **3**, **4** ve **9** ileriki çalışmalar için sitotoksik/antikanser etkili yeni bileşikler geliştirmede model olarak alınabilirler.

7. KAYNAKLAR

1. Kutluk T, Kars A. Kanser Konusunda Genel Bilgiler Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı; 1998.
2. Pitot HC. Fundamentals of Oncology. New York: Marcel Dekker Inc.1976: 19-21
3. Çelik İ, Güllü İ, Barışta İ. Kanser Tedavi Prensipleri ve İlaçlar. In: İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S, eds. Temel İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 2052-2073
4. Kutluk T, Kars A. Kanser Konusunda Genel Bilgiler. Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları. Ankara: 4.Akşam Sanat Okulu Matbaası, 1996: 7-77
5. Cazin M, Lesieur İ, Lesieur D, Lespagnol C, Delacourte A, Baudier P, Bianchi A. 2-(Aminoalkyl)acrylophenones, leur preparation et leur utilisation. Eu Patent, 1985 Patent No: 0 156 785.
6. Barron P. Doğal Yollardan Yararlanma Kılavuzu. Tercüme: Zeynep Sirer. Alkım Yayınları. 1999
7. Gabriel JA. The Biology of Cancer (Second Edition). Chichester, John Wiley & Sons, West Sussex: 2007: 33-43
8. Weber GF. Molecular Mechanisms of Cancer. Dordrecht: Springer, 2007: 45-60
9. İçli F, Akbulut H, eds. Tıbbi Onkoloji. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi. Ankara: Antıp A. Ş Yayınları, 1997: 106-107, 111-112
10. Dowling MD, Krakoff IH, Karnofsky DD. Mechanism of Action of Anticancer Drugs. In Warren C, ed. Chemotherapy of Cancer. Philadelphia: Lea and Febiger,1970: 1210-1230

11. Uysal, A. Antikanser Ajanlar, Klinik Hematoloji. Ankara: Antip A. Ş. Yayınları, 1997: 7-43
12. De Vita JVT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Principles and Practices of Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001: 363-376
13. Katzung BG, ed. Basic and Clinical Pharmacology. USA: Mc-Graw-Hill, 2007: 878-879
14. Roche FR, Lemke TL, Williams DA, Zito SW, eds. Cancer and Chemotherapy. (Sixth Edition). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007:1156
15. Kayaalp SO, ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Yayınları; 2002.
16. 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. J Pharm Sci 1994; 83: 999-1005
17. Pratt WB, Ruddon RW. The Anticancer Drugs. New York: Oxford University Press, 1979: 56-66
18. Wittes RE. Manual of Oncology Therapeutics. Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 1989: 94-95, 113-114, 119-121
19. Ertan M. Anticancer İlaçlar. Akgün H, Balkan A, Çalış Ü, Dalkara S, Erdoğan H, Erol DD, et al. Farmasötik Kimya Ankara: Irmak Matbaası, 2000: 1180-1219
20. Haskell MC. Cancer Treatment, (Third Edition). Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1990: 33-102
21. De Vita JVT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Cancer: Principles and Practices of Oncology. (Third Edition). Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 1989: 362-365

22. Dorr RT, Von-Hoff DD. Drug Monographs. Dorr RT, Von-Hoff D, eds. Cancer Chemotherapy Handbook. Connecticut: Appleton and Lange, 1994: 395-416
23. Calendi E, Dimarco A, Reigiani M. On physicochemical interactions between daunomycin and nucleic acid. *Biochim Biophys Acta*. 1965; 103: 25-49
24. Slawinska A, Kanfender-Szerszen M. The anticancer properties of statins. *Postepy Hig Med Dosw* 2008; 62: 393-404
25. Castellani ML, Shaik YB, Shanmugham LN, Frydas S, Madhappan B, Salini V, et al. Role of flavonoids and vitamins in cancer. *Riv Biol* 2007; 100: 39-54
26. Gordaliza, M. Natural products as leads to anticancer drugs. *Clin Transl Oncol* 2007; 9: 767-776
27. Dimmock JR, Kumar P. Anticancer and cytotoxic properties of Mannich bases. *Curr Med Chem* 1997; 4: 1-22
28. Gul HI, Gul M, Erciyas E. Synthesis and stability studies of some Mannich bases of acetophenones and their cytotoxicity against jurkat cells. *Arzneimittelforschung* 2002; 52: 628-635
29. Gul HI, Gul M, Vepsalainen J, Erciyas E, Hanninen O. Cytotoxicity of some azines of acetophenone derived mono-Mannich bases against Jurkat cells. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 631-637
30. Gul M, Mete E, Atalay M, Arik M, Gul HI. Cytotoxicity of 1-aryl-3-buthylamino-1-propanone hydrochlorides against Jurkat and L6 cells. *Arzneimittelforschung* 2009; 59: 364-369
31. Gul M, Gul HI, Vepsalainen J, Erciyas E, Hanninen O. Effect of acetophenone derived Mannich bases on cellular glutathione level in jurkat cells. A possible mechanism of action. *Arzneimittelforschung* 2001; 51: 679-682

32. Gul M, Gul HI, Hänninen O. Effects of Mannich bases on cellular glutathione and related enzymes of Jurkat cells in culture conditions. *Toxicol in Vitro*. 2002; 16: 107-112
33. Dimmock JR, Nyathi CB, Smith PJ. Synthesis and evaluation of 1-(hydroxyphenyl)-1-nonen-3-ones and related compounds for antineoplastic and antimicrobial activities. *J Pharm Sci* 1978; 67: 1543-1546
34. Hamon NW, Bassendowski DL, Wright DE, Dimmock JR, Noble LM. Effect of antineoplastic and cytotoxic Mannich bases derived from conjugated styryl ketones on mitochondrial respiration in rat liver cells. *J Pharm Sci* 1978; 67: 1539-1542
35. Gul HI, Denizci AA, Erciyas E. Antimicrobial evaluation of some Mannich bases of acetophenones and representative quaternary derivatives. *Arzneimittelforschung* 2002; 52: 773-777
36. Gul HI, Sahin F, Gul M, Ozturk S, Yerdelen KO. Evaluation of antimicrobial activities of several mannich bases and their derivatives. *Arch Pharm* 2005; 338: 335-338
37. Dimmock JR, Jonnalagadda SS, Phillips OA, Erciyas E, Shyam K, Semple HA. Anticonvulsant properties of some Mannich bases of conjugated arylidene ketones. *J Pharm Sci* 1992; 81: 436-440
38. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis of some mono Mannich bases and corresponding azine derivatives and evaluation of their anticonvulsant activity. *Arzneimittelforschung* 2004; 54: 359-364
39. Gul HI, Calis U, Vepsalainen J. Synthesis and evaluation of anticonvulsant activities of some bis-Mannich bases and corresponding piperidinols. *Arzneimittelforschung* 2002; 52: 863-869
40. Gul HI, Calls U, Ozturk Z, Tutar E, Calikiran L. Evaluation of anticonvulsant activities of bis(3-aryl-3-oxo-propyl) ethylamine hydrochlorides and 4-aryl-3-

- arylcarbonyl-1-ethyl-4-piperidinol hydrochlorides. *Arzneimittelforschung* 2007; 57: 133-136
41. Suleyman H, Gul HI, Asoglu M. Antiinflammatory activity of 3-benzoyl-1-methyl-4-phenyl-4-piperidinol hydrochloride. *Pharmacol Res* 2003; 47: 471-475
42. Suleyman H, Gul HI, Gul M, Alkan M, Gocer F. Anti-inflammatory activity of bis(3-aryl-3-oxo-propyl)methylamine hydrochloride in rat. *Biol Pharm Bull* 2007; Jan 30: 63-67
43. Kotecka BM, Barlin GB, Edstein M, Rieckmann KH. New quinoline di-Mannich base compounds with greater antimalarial activity than chloroquine, amodiaquine or pyronaridine. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1369-1374
44. Varma RS, Garg PK, Verma HN, Awasthi LP. Potential biologically active agents, XXXII. Synthesis and antiviral activity of some 3-(arylthiosemicarbazono)-2-indolinones. *Arch Pharm* 1981; 314: 918-922
45. Dimmock JR, Shyam K, Smith PJ. Decomposition of 1-aryl-3-dimethylamino-1-propanone methobromides under weakly acidic conditions. *Pharmazie* 1984; 39: 467-470
46. Edwards ML, Ritter HW, Stemerick D, Stewart KT. Mannich bases of 4-phenyl-3-buten-2-one: a new class of antiherpes agent. *J Med Chem* 1983; 26: 431-436
47. Lee KH, Furukawa H. Antitumor agents. 3. Synthesis and cytotoxic activity of helenalin amine adducts and related derivatives. *J Med Chem* 1972; 15: 609-611
48. Dimmock JR, Shyam K, Logan BM, Smith PJ, Cross BM. Syntheses and evaluation of some mannich bases derived from acetophenones against P388 lymphocytic leukemia and toxicological assessment of 3-dimethyl-amino-2-

- dimethylaminomethyl-1-(4-methoxyphenyl)-1-propanone dihydrochloride in rats. *J Pharm Sci* 1984; 73: 471-477
49. Sosnovsky G. The quest for a predictive design of anticancer drugs. *App Chem* 1990; 62: 289-290
50. Dimmock JR, Erciyas E, Kirkpatrick DL, King KM. Evaluation of some azines of aminomethylacetophenones and related quaternary ammonium compounds versus the EMT6 Tumour. *Pharmazie* 1988; 43: 614-616
51. Dimmock JR, Baker GB, Sutherland RG. Evaluation of 1-phenyl-1,3-undecadien-5-one and related compounds for antineoplastic and cytotoxic activity. *Can J Pharm Sci* 1975; 10: 53-59
52. Mollica JA, Smith JB, Nunes JM, Govan HK. Kinetics of the decomposition of a Mannich base. *J Pharm Sci* 1970; 59: 1770-1774
53. Gul HI, Vepsalainen J, Gul M, Erciyas E, Hanninen O. Cytotoxic activities of mono and bis Mannich bases derived from acetophenone against Renca and Jurkat cells. *Pharm Acta Helv* 2000; 74: 393-398
54. Ashby J. *Chem Brit.* 1978; 14: 595
55. Dimmock JR, Raghavan SK, Bigam GE. Evaluation of mannich bases 2-arylidene-1,3-diketones versus murine P388 leukemia. *Eur J Med Chem* 1988; 23: 111-117
56. Farmer PB. Monitoring for human exposure to carcinogenes. *Chem Brit* 1982; 18: 790-794
57. Cairns J. Efficiency of the adaptive response of escherichia coli alkylating agents. *Nature* 1980; 286: 176-178
58. Waddell TG, Gebert PH, Tait DL. Michael type reaktions of tenulin, a biologically active sesquiterpene lactone. *J Pharm Sci* 1983; 72: 1474-1476

59. Baluja G, Municio AM, Vega S. Reactivity of some α,β -unsaturated ketones towards sulphhydryl compounds and their antifungal activity. *Chem Ind* 1964; 3: 2053-2054
60. Stern H. Sulphydryl groups and cell division. *Science* 1956; 124: 1292-1293
61. Knock FE, Galt RM, Oester YT. Preferential attack on cancer by selected SH inhibitors. *J Am Med Assoc* 1970; 214: 146
62. Bergmann E, Gingsburg D, Pappo R. The Michael Reaction. *Organic Reactions* 1959; 10: 179-555
63. Charton M, Zabicky J. In chemistry of the alkenes. John Wiley & Sons eds. New York; 1970
64. March J. *Advanced Organic Chemistry*. (Fourth Edition) John Wiley & Sons, eds. New York; 1992
65. Dimmock JR, Smith LM, Smith PJ. The reaction of some nuclear substituted acyclic conjugated styryl ketones and related Mannich bases with ethanethiol. *Can J Chem* 1980; 58: 984-991
66. Friedman M, Cavins JF, Wall JS. Relative nucleophilic reactivities of amino groups and mercaptide ions in addition reactions with α,β -unsaturated compounds. *J Am Chem Soc* 1965; 87: 3672-3682
67. Chu KC. The quantitative analysis of structure-activity relationships. John Wiley & Sons, eds. New York; 1980
68. Hammett LP. The effect of structure upon the reactions of organic compounds: benzene derivatives. *J Am Chem Soc* 1937; 59: 96-103
69. Lewis ES. *Techniques of Chemistry*. John Wiley & Sons, eds. New York; 1986

70. Hansch C, Leo A, Unger S, Kim H, Nikaitani D, Lien EJ. "Aromatic" substituent constants for structure-activity correlations. *J Med Chem* 1973; 16: 1207-1216
71. Hansch C, Fujita T. Additions and corrections-analysis. A Method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J Am Chem Soc* 1964; 86: 1616-1626
72. Fujita T, Iwasa J, Hansch CA. New substituent constant π derived from partition coefficients. *J Am Chem Soc* 1964; 86: 5175-5180
73. Cain BF. The role of structure-activity studies in the design of antitumor agents. *Cancer Chemother Rep* 1975; 59: 679-683
74. Burger A. Drug design and development. A realistic appraisal. *J Med Chem* 1978; 21: 1-4
75. Kupchan SM, Eakin MA, Thomas AM. Tumor inhibitors. 69. Structure-cytotoxicity relationships among the sesquiterpene lactones. *J Med Chem* 1971; 14: 1147-1152
76. 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. *J Med Chem* 1974; 17: 668-687
77. Hansel W, Haller R. Structure of condensation products from acetone dicarboxylic acids esters and aldehydes. *Arch Pharm* 1970; 303: 334-338
78. Cummings TF, Shelton JR. Mannich reaction mechanisms. *J Org Chem* 1960; 25: 419-423
79. Honn KV, Marnett L. Requirement of a reactive α,β -unsaturated carbonyl for inhibition of tumor growth and induction of differentiation by "A" series prostaglandins. *Biochem Biophys Res Comm* 1985; 129: 34-40

80. Tramontini M, Angiolini L, Ghedini N. Mannich bases in polymer chemistry. *Polymer* 1988; 29: 771-788
81. Böhme H, Hartke D. α -Halogenated amines. VII. The cleavage of animals and α -dialkylamino ethers the carboxylic acid halides. *Chem Ber* 1960; 93: 1305-1309
82. Dimmock JR, Shyam K, Hamon NW, Patil SA, Smith PJ. Bis-Mannich bases of styryl ketones as antileukemic agents. *Neoplasma* 1985; 32: 85-91
83. Emmelot P. *The Molecular Basis of Cancer Chemotherapy*. Ariens EJ, ed. New York: Academic Press; 1964
84. Dimmock JR, Wong MLC. Bioactivities and potential uses in drug design of acyclic alpha, beta-unsaturated ketones. *Can J Pharm Sci* 1976;11: 35-53
85. Dimmock JR, Taylor WG. Evaluation of nuclear substituted styryl ketones and related compounds for antitumor and cytotoxic properties. *J Pharm Sci* 1975; 64: 241-249
86. Dimmock JR, Hamon NW, Chow EWK, Kirkpatrick DL, Smith LM, Prior MG. Evaluation of some conjugated styryl ketones and related compounds as inhibitors of mitochondrial function mutagens and general pharmacological agents. *Can J Pharm Sci* 1980; 15: 84-88
87. Dimmock JR, Hamon NW, Hindmarsh KW, Mills DG, Negrave LE, Rank GH, et al. Evaluation of Mannich bases and related compounds as inhibitors of mitochondrial function in yeast and inhibition of blood platelet aggregation, blood clotting and in vitro metabolism of 5-dimethylamino-1-phenyl-1-penten-3-one hydrochloride. *J Pharm Sci* 1976; 65: 482
88. King FD. *Medicinal Chemistry Principles and Practice*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 1994

89. Foye WO. Principles of Medicinal Chemistry (Third Edition) Philadelphia: Lea Febiger; 1989