



**4-[5-(2,4/3,4-DİMETOKSİFENİL)-3-SÜBSTİTÜEFENİL-
4,5-DİHİDRO-1H-PİRAZOL-1-İL]
BENZENSÜLFONAMİT TÜREVLERİNİN SENTEZİ
VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Dilan Özmen ÖZGÜN

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halise İnci GÜL

Yüksek Lisans Tezi-2016

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**4-[5-(2,4/3,4-DİMETOKSİFENİL)-3-SÜBSTİTÜEFENİL-
4,5-DİHİDRO-1H-PİRAZOL-1-İL]BENZENSÜLFONAMİT
TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE SİTOTOKSİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Dilan ÖZMEN ÖZGÜN

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

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

**ERZURUM
2016**

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

4-[5-(2,4/3,4-DİMETOKSİFENİL)-3-SÜBSTİTÜEFENİL-4,5-DİHİDRO-
1H-PİRAZOL-1-İL] BENZENSÜLFONAMİT TÜREVLERİNİN
SENTEZİ VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Dilan ÖZMEN ÖZGÜN

Tez Savunma Tarihi: 18/04/2016

Tez Danışmanı: Prof. Dr. H. İnci GÜL

Jüri Üyesi: Prof. Dr. H. İnci GÜL

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

Jüri Üyesi: Yrd. Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU

Onay

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


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM-2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kanser	2
2.2. Kanserin Gelişimi	2
2.3. Kanser Oluşmasının (Karsinogenez) Nedenleri	3
2.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçların Sınıflandırılması	3
2.4.1. Mitoz İnhibitörleri.....	4
2.4.2. Alkilleyici Bileşikler.....	4
2.4.3. Antimetabolit Bileşikler.....	4
2.4.4. Sitostatik Antibiyotikler.....	4
2.4.5. Hormon ve Hormon Antagonistleri	4
2.4.6. Radyoaktif İzotoplar	4
2.5. İlaç Tasarımında Moleküllerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Önemi Kantitatif Yapı-Etki İlişkisi (QSAR) Yaklaşımı	5
2.5.1. Hammett Korelasyonu	5
2.5.2. Hansch Analizi.....	6
2.5.3. Dağılım (Partisyon) Katsayısı (P).....	6
2.5.4. İyonlaşma Sabiti (Ka)	6

2.5.5. İlaç Tasarlama Topliss Yaklaşımı.....	7
2.6. Planlanan Bileşiklerin Antikanser Ajan Olarak Tasarlanmalarındaki Gereçekler	8
3. MATERYAL VE METOT.....	9
3.1. Kimyasallar ve Yöntemler	9
3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar	9
3.1.2. Yöntemler	9
3.2. 3-(Süstitüefenil)-1-(4-süstitüefenil)-2-propen-1-on'ların (A1- A6) (Şalkon Türevi Bileşikler) Genel Sentez Yöntemi.....	10
3.3. 4-[5-(2,4/3,4-Dimetoksifenil)-3-süstitüefenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]Benzensülfonamit'lerin (B1-B6) (Pirazolin Türevi Bileşikler Genel Sentez Yöntemi	10
3.4. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro- <i>H</i> -pirazol-1-il] benzensülfonamit sentezi, B1.....	11
3.5. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] benzensülfonamit sentezi, B2.....	13
3.6. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit sentezi, B3.....	16
3.7. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit sentezi, B4.....	18
3.8. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit sentezi, B5.....	21
3.9. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit sentezi, B6.....	23
3.10. Biyoaktivite Çalışmaları	26
3.10.1. Gereç ve Yöntem	26

3.10.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. Deneysel ve Spektral Bulgular	28
4.2. Biyoaktivite Bulguları.....	28
5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR	37
EKLER	42
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	42
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	43

TEŞEKKÜR

Kıymetli bilgi, eleştiri ve yönlendirmelerini esirgemeyerek, anlayış ve hoşgörüsü ile çalışmalarımı destekleyen ve sabırla tezimi yöneten, sevgi dolu, çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. H. İnci GÜL'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

ÜNİP kapsamında yüksek lisans eğitimimi gerçekleştirmemde ve proje çalışmalarımda beni destekleyen Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi ve Atatürk Üniversitesi'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmalarda tecrübelerinden yararlandığım Arş. Gör. Cem YAMALI ve Arş. Gör. Mehtap TUĞRAK'a, NMR spektrumlarımı alan Prof. Dr. Cavit KAZAZ ve Dr. Barış ANIL'a ve spektral analizlerimdeki çok değerli yorumları ve katkılarından ötürü Doç. Dr. Ebru METE'ye, sitotoksite testlerimi yapan Prof. Sakagami'ye yürekten teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca her türlü desteği, güveni ve sevgisinden dolayı annem, babam ve değerli eşim Kamuran ÖZGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Dilan ÖZMEN ÖZGÜN

ÖZET

4-[5-(2,4/3,4-Dimetoksifenil)-3-sübstitüefenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il] Benzensülfonamit Türevlerinin Sentezi ve Sitotoksik Aktivitelerinin İncelenmesi

Amaç: Bu tez çalışmasında 4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-sübstitüefenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamit yapısına sahip potansiyel sitotoksik/antikanser etkili yeni bileşiklerin sentezlenmesi ve sitotoksik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada ilk adımda Clasiens –Schmidt yöntemi ile **A1-A6** şalkon türevleri, ikinci adımda **A1-A6** türevlerinin parahidrozinobenzen-sülfonamit hidroklorür ile etil alkol içinde katalitik miktarda glasiyal asetik asit varlığında geri çeviren soğutucu altında ısıtılması ile **B1-B6** türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksitesi MTT yöntemi ile bazı kanser hücre hatları [Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil)] ve normal hücrelere [HGF (diş eti fibroblast), HPC (pulpus hücreleri), HPLF (periodontal ligament fibroblastları)] karşı araştırılmıştır.

Bulgular: Bileşiklerin **B1-B6** kimyasal yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS ile aydınlatılmıştır. Bileşiklere ait NMR verileri Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de, bileşiklere ait HRMS verileri Tablo 4.3’de ve sitotoksik aktivite sonuçları Tablo 4.5’de sunulmuştur.

Sonuç: **B1-B6** bileşikleri %22-68 verimle başarıyla sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS ile aydınlatılmıştır. **B1** bileşiği yenidir. Sentezlenen bileşiklerin genel olarak tümör selektivitesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Bu bileşikler antikanser ilaç geliştirmede ilgili veriler ışığında uygun türevler değildir. Her iki tümör selektivitesi hesaplamasında en yüksek tümör selektivite (TS) değerine sahip olan **B6** bileşiği çalışılan türevler içinde ileriki çalışmalar için model bileşik olarak göz önünde bulundurulabilir.

Anahtar Kelimeler: Halojen, pirazolin, sitotoksite, sülfonamit, şalkon.

ABSTRACT

Synthesis and Evaluation of Cytotoxicities of 4- [5- (2,4 / 3,4-Dimethoxy phenyl) -3-substituephenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl] Benzenesulfonamide Derivatives

Aim: It was aimed to synthesize and to evaluate the cytotoxic activities of the new compounds having the chemical structure of 4- [5- (2,4 / 3,4-dimethoxy phenyl) -3-substituephenyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide derivatives which are potential cytotoxic/anticancer activities by this thesis.

Material and Methods: The first step of this study, chalcone derivatives **A1-A6** were synthesized by Claisen-Schmidt method. At the second step of this study the compounds **B1-B6** were synthesized by refluxing of the compounds suitable compound of **A1-A6** and parahydrazino benzen sulfonamide hydrochloride in ethanol in the presence of catalytic amount of glacial acetic acid. It was investigated the cytotoxic activities of the compounds against several cancer cell lines [Ca9-22 (gum), HSC-2 (mouth), HSC-3 (tongue), HSC-4 (tongue)] and normal cells [HGF (tooth ethyl fibroblast), HPC (pulpus cells) HPLF (periodontal ligament fibroblasts)] using MTT method.

Results: : The chemical structures of the compounds synthesized **B1-B6** were elucidated by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. NMR data of the compounds were presented in Table 4.1 and 4.2 while HRMS data of the compounds was presented in Table 4.3. On the other hand the cytotoxic activity results of the compounds **B1-B6** were presented in Table 4.5.

Conclusion: The compounds **B1-B6** were successfully synthesized with the yields of 22-68 %. The chemical structure of the compounds were elucidated by ¹H NMR, ¹³C NMR and HRMS. The compound **B1** is new and reported for the first time by this study. The cytotoxic activities of the compounds were not generally impressive. In the view of data obtained by this study, the compounds designed here doesn't seem suitable derivatives for developing new anticancer compounds. Among the compounds studied, the compound **B6** which has the highest tumour selectivity value in both calculation can be considered for further studies.

KeyWords: Chalcone, cytotoxicity, halogen, pyrazoline, sulfonamide.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

bs	: Broad Singlet
⁰C	: Santigrad Derece
¹³C NMR	: ¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans
Ca9-22	: Diş eti Hücre Karsinomaları
CC₅₀	: Hücrelerin %50' sini Öldüren Bileşiklerin Mikromolar (µM) Olarak Konsantrasyonu
CDCl₃	: Dötorokloroform
CHCl₃	: Kloroform
d	: Dublet
dd	: Dubletin dubleti
DMSO-<i>d</i>₆	: Dötorodimetilsülfoksit
EtOH	: Etanol
5-FU	: 5-Florourasil
g	: Gram
¹H NMR	: ¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
HGF	: Gingival Fibroblastlar
HPLF	: Peridontal Ligament Fibroblastlar
HSC	: Oral Hücre Karsinomaları
Hz	: Hertz
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
QSAR	: Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri
<i>J</i>	: Jiromanyetik Sabiti
m	: Multiplet
MeOH:	: Metanol

ml	: Mililitre
μM	: Mikromolar
mmol	: Milimol
NaOH	: Sodyum Hidroksit
ppm	: Milyonda Bir Kısım
s	: Singlet
t	: Triplet
TS	: Tümör Selektivitesi
UV	: Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. İlaç tasarımında Topliss karar ağacı	7
Şekil 3.1. Şalkonların (A1-A6) genel sentez yöntemi	10
Şekil 3.2. Pirazolin tipi bileşiklerin (B1-B6) genel sentez yöntemi	10
Şekil 3.3. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1- il]benzensülfonamid, B1	11
Şekil 3.4. B1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	12
Şekil 3.5. B1 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	13
Şekil 3.6. B1 bileşiğinin kütle spektrumu.....	13
Şekil 3.7. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1- il]benzensülfonamid, B2	14
Şekil 3.8. B2 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	15
Şekil 3.9. B2 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	15
Şekil 3.10. B2 bileşiğinin kütle spektrumu.....	16
Şekil 3.11. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1- il]benzensülfonamid, B3	16
Şekil 3.12. B3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	17
Şekil 3.13. B3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	18
Şekil 3.14. B3 bileşiğinin kütle spektrumu.....	18
Şekil 3.15. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] benzensülfonamid, B4	19
Şekil 3.16. B4 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	20
Şekil 3.17. B4 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	20
Şekil 3.18. B4 bileşiğinin kütle spektrumu.....	21

Şekil 3.19. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit, B5	21
Şekil 3.20. B5 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	22
Şekil 3.21. B5 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	23
Şekil 3.22. B5 bileşiğinin kütle spektrumu.....	23
Şekil 3.23. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit, B6	24
Şekil 3.24. B6 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	25
Şekil 3.25. B6 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	25
Şekil 3.26. B6 bileşiğinin kütle spektrumu.....	26

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 4.1. B1-B6 bileşiklerinin ^1H NMR verileri.....	29
Tablo 4.2. B1-B6 bileşiklerinin ^{13}C NMR verileri.....	30
Tablo 4.3. B1-B6 bileşiklerinin HRMS verileri.....	31
Tablo 4.4. B1-B6 bileşiklerinin deneysel verileri	31
Tablo 4.5. B1-B6 bileşiklerinin sitotoksosite sonuçları.....	32



1. GİRİŞ

Kanser gelişmiş ülkelerde görülen en önemli sağlık problemlerinden biridir.¹ Kanser tedavisinde radyasyon, cerrahi tedavi ve kemoterapi (ilaçla tedavi) uygulanır. Kemoterapi farmasötik (medisinal) kimya'nın kapsamındadır.² Piyasadaki mevcut antikanser ilaçlar yan etkileri, toksisiteleri, kazanılmış direnç, kanser hücrelerine karşı düşük seçicilik gibi problemler nedeniyle etkin tedavide yeterince kullanılamamaktadır.³

Şalkonların ve sülfonamitlerin sitotoksik/antikanser etkileri de içine alan geniş bir biyoaktivite spektrumu vardır. Yine 1,3,5- trisüstitüe pirazolin yapısı içeren bileşik için geniş bir biyoaktivite spektrumundan bahsedilirken, bunların sitotoksik/antikanser aktiviteleri ile ilgili çalışmalar nisbeten sınırlı sayıdadır.

Sülfonamit ve pirazolin farmakoforlarını birlikte içeren bileşiklerin tasarımı sitotoksik/antikanser etkili yeni bileşikler bulmada uygun bir medisinal kimya yaklaşımıdır. Bu yolla söz konusu problemlerin çözümüne yönelik yeni bileşikler, olası ilaç adayları bulunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Uluslararası Kanser Enstitüsü'ne göre kanser, ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan bir hastalıktır. Kanser, normal hücrelerin uydukları denetim ve kontrol mekanizmalarına uymayan, kontrolsüz ve aşırı çoğalan hücrelerin oluşturduğu bir hastalıktır.⁴

2.2. Kanserin Gelişimi

Hücre siklusu, çoğalmak (prolifere olmak) üzere uyarılmış bir hücrede gerçekleşen ve bir dizi geçici biyokimyasal aktivitelerin ve morfolojik değişikliklerin görüldüğü bir süreçtir. Bir sıklusa giren hücre, morfolojik ve genetik olarak birbirine tıpa tıp benzeyen iki hücre oluşumuyla döngüyü tamamlar. Hem normal hücreler hem de tümör hücreleri aynı hücre siklüsünü kullanırlar. Genel olarak, hücreler bir bölünme sinyali almadıkları sürece hücre siklusunun aktif (G1, G2, S ve M) fazlarına girmezler ve istirahat fazı denilen G0 fazında beklerler. Hücre bölünme sinyalini aldığı anda hücre siklusa sokularak bölünmeye sevk edilmiş olur. Hücreler mitozise girmeden önce bir hazırlık safhası geçirirler ve bu safhada hücreler hacimce büyürler. Bu hazırlık safhasında bölünme için gerekli olan çeşitli düzenleyici proteinler ve makromoleküller sentezlenir. Bu hazırlık safhasına da interfaz denir. İnterfaz kendi içinde G1, S, ve G2 olmak üzere çeşitli alt bölümlerden (fazlardan) oluşur.^{5,6}

G1 Fazı: Gen ekspresyonu ve protein senteziyle en karakterizedir. Bu faz, hücre siklusunun primer olarak mitojenler (sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar vs.) ve adezyon gibi hücre dışı stimuluslar tarafından regüle edilen tek kısmıdır. Bu faz hücrenin büyümesini ve DNA sentezi için gereken proteinleri oluşturmasını sağlar. Bunun önemi hücrenin bir sonraki faz olan S (sentez) fazına geçmeye hazır hale gelmesidir.^{5,6}

S Fazı: DNA replikasyonu olarak bilinen nükleer DNA sentezinin gerçekleştiği fazdır.^{5,6}

G2 Fazı: S fazının tamamlanması ile mitozun başlaması arasındaki boşluktur. Hücre büyümeye ve protein sentezlemeye devam eder. İki hücre için gereken protein miktarına ulaştıktan sonra M (mitoz) fazına girer.^{5,6}

M Fazı: Nükleer bölünme tamamlandıktan sonra sitokinez adı verilen sitoplazmik bölünme ile iki hücreye ayrılır. Siklus tamamlandıktan sonra hücre G1 e girerek siklusu yeniden başlatabilir ya da G0 fazına girerek sessiz kalabilir. Normal hücresel düzenleme mekanizmaları bozulursa, kanser olarak bilinen düzenlenemeyen ve kontrol edilemeyen hücre bölünmeleri görülebilir.^{5,6}

2.3. Kanser Oluşmasının (Karsinogenez) Nedenleri

Hücrenin genetik materyale zarar verebilecek maddelere ve kanserojenlere maruz kaldığında kötü huylu transformasyonlar sonucu genetik değişikliğe uğraması karsinogenez olarak adlandırılır. Endojen ve ekzojen kaynaklı nedenler karsinogeneze neden olurlar. Endojen nedenlerin en önemlileri kalıtsal bozukluklar ve bozuk immün fonksiyonlardır. Ekzojen nedenler ise iyonize ve ultraviyole ışınlar, kimyasal karsinojenler ve onkojenik virüsler olarak sınıflandırılabilir.²

2.4. Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçların Sınıflandırılması

Kliniğe girmiş ilaç grupları aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.²

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

2.4.1. Mitoz İnhibitörleri

Doğal kaynaklı bazı alkaloitler bu grup içinde değerlendirilirler. Vinka alkaloitleri olan vinblastin ve vindesin örnek olarak gösterilebilirler.²

2.4.2. Alkilleyici Bileşikler

Bu bileşikler nükleik asitleri alkilleyerek etkilerini gösterirler. Böylece nükleik asit reduplikasyonunu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe ederler. Azotlu hardallar, etilenimin türevleri, alkil sülfonatlar, nitrozoüre türevleri, karbazin grubu bileşikler, platin kompleksleri bu sınıfa örnek olarak verilebilir.²

2.4.3. Antimetabolit Bileşikler

Nükleik asitlere veya bunların yapısına katılan koenzimlere yapısal olarak benzerler. Bu yolla nükleik asitlerin polimerizasyonunu veya polimeraz enzimlerin aktivitesini durdurarak antikanser etki gösterirler. Sitostatik olarak seçimli değillerdir. Kullanımları kısıtlıdır. Substrat analogları, nükleozit analogları, folik asit analogları örnek olarak verilebilir.²

2.4.4. Sitostatik Antibiyotikler

Antibiyotikler, DNA bağımlı RNA sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler. Polipeptit antibiyotikler, antrasiklin grubu antibiyotikler, antrakınon ve akridin grubu gibi ilaç sınıfları örnek verilebilir.²

2.4.5. Hormon ve Hormon Antagonistleri

Östrojen, progesteron ve androjenler büyümesi hormonal etkilere bağlı olan prostat ve meme gibi kanser türlerinde kullanılırlar. Klorotrianisen, mifepriston ve formestan örnek olarak verilebilir.²

2.4.6. Radyoaktif İzotoplar

Radyoaktif izotoplarla tümör tedavisi ışın tedavisinin yardımcı bir şeklidir. Radyoaktif fosfor ve radyoaktif iyot ışın tedavisi için kullanılan belli başlı

izotoplardandır.²

2.5. İlaç Tasarımında Moleküllerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Önemi Kantitatif Yapı-Etki İlişkisi (QSAR) Yaklaşımı

QSAR yaklaşımı ilaç moleküllerinin fizikokimyasal özellikleri ile biyolojik aktivitesi arasındaki ilişkiyi kantitatif olarak inceler. QSAR yaklaşımı ile moleküllerin hidrofobik, elektronik ve sterik parametreler üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Bir ilaç molekülünde bu özelliklerin herhangi birinin değişmesi biyoaktivitede değişikliklere neden olur.

QSAR analizleri; Hammett korelasyonu, Hansch analizi, log P, iyonlaşma sabiti ve Topliss yaklaşımı gibi korelasyonlarla yapılmaktadır.²

2.5.1. Hammett Korelasyonu

Hammett yaklaşımında homolog bir seride aromatik halka üzerinde bulunan sübstitüentin elektron alma ve elektron verme özellikleri ile kimyasal etkinliği arasındaki ilişki açıklanır. Hammett sabiti (σ) aromatik halkanın meta ve para konumlarındaki sübstitüentlerin indüktif ve rezonans etkilerinin toplamına eşittir. Bu değer elektron veren gruplar için (-), elektron alan gruplar için (+) işaretiyle gösterilir.²

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

K^H nonsübstitüe bileşik reaksiyonları için, K^X sübstitüe bileşik reaksiyonları için denge değişmezidir.

$$\log K^X - \log K^H = P\sigma \text{ ve } \log K^X = P\sigma + \log K^H$$

Sübstitüe bileşik etkinliği ($\log K^X$) σ ile doğru orantılıdır. Sübstitüentin etkisi P ile gösterilir.

2.5.2. Hansch Analizi

Birçok ilacın biyolojik olarak etkinliği birden fazla fizikokimyasal özelliğe bağlıdır. Hammett eşitliği gibi biyolojik aktivite ile fizikokimyasal özellikler arasında bağlantı kurar.²

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

P_H nonsüstitüe bileşiğe ait dağılım katsayısı, P_x ise süstitüe bileşiğe ait dağılım katsayısını göstermektedir. π simgesi Hansch hidrofobik süstitüent değişmezini ifade etmektedir. bulunması incelenen X Süstitüent molekülün yağdaki çözünürlüğünü, ana bileşiğin yağdaki çözünürlüğüne oranla arttırmışsa π değeri pozitif, azaltmışsa π değeri negatif değer alır.²

2.5.3. Dağılım (Partisyon) Katsayısı (P)

Biyolojik açıdan aktif birçok bileşiğin en önemli özelliğinin onların lipofilisiteleri 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.²

2.5.4. İyonlaşma Sabiti (Ka)

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.²

Asitler için:

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

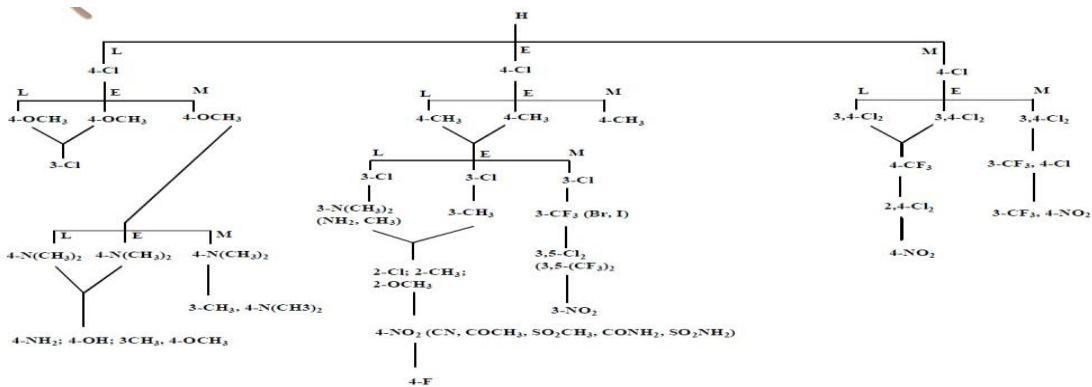
Bazlar için:

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

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.²

2.5.5. İlaç Tasarımda Topliss Yaklaşımı

Topliss yöntemi Hansch analizine benzer bir şekilde ilaç adaylarının modifiye edildiği bir yöntemdir. Topliss'in "Karar Ağacı" yaklaşımı aromatik halkaları ve yan zincirleri modifiye etmek için kullanılır. 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 arttırılmış 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.²



Şekil 2.1. İlaç tasarımında Topliss karar ağacı

2.6. Planlanan Bileşiklerin Antikanser Ajan Olarak Tasarlanmalarındaki Gerekseler

Bu tez çalışmasında 4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-sübstitüefenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid kimyasal yapısındaki pirazolin türevlerinin sentezlenmesi ve sitotoksik/antikanser aktivitelerinin çeşitli hücre hatlarına karşı araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda α,β -doymamış keton yapısı taşıyan şalkonlardan hareketle pirazolin tipi bileşiklerin sentezi gerçekleştirilmiştir.

Şalkonların antibakteriyel⁷, antimalaryal⁸, antifungal⁹, antialerjik¹⁰, antitümör¹¹ aktiviteleri rapor edilmiştir. Sülfonamid türevi bileşiklerinde antikanser¹²⁻¹⁴, karbonik anhidraz (CA) inhibitörü^{15,16}, antibakteriyel¹⁷, antimalaryal¹⁸, antitümör^{12,13,19}, antihipertansif²⁰, anti-inflamatuvar²¹ ve antiprotozoal²² gibi çeşitli biyolojik aktiviteler gösterdiği rapor edilmiştir.

Son yıllarda, pirazol halkası taşıyan sülfonamidlerin antibakteriyel²³, antiinflamatuvar¹³, antiobezite²⁴ gibi aktiviteler gösterdiği yine literatürde kayıtlıdır. Tıbbi açıdan önemli pirazolin türevleri 1,3,5-trisübstitüe-2-pirazolin yapısına sahiptir. Bu tip türevlerin antimikrobiyal²⁵, antiinflamatuvar^{13,26}, analjezik²⁷ ve antitüberküler²⁵, antikanser^{28,13} aktiviteleri kayıtlıdır.

Ancak 1,3,5-trisübstitüe-2-pirazolin tipi bileşiklerin sitotoksik/antikanser aktiviteleri ile ilgili olarak literatürde sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Bu tez kapsamında bu alandaki bilgi birikimine katkı sağlamak amacı ile 4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-sübstitüefenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid kimyasal yapısındaki bileşiklerin sentezi, sitotoksisite ve tümör selektivitelerinin araştırılması antikanser etkili yeni bileşikler bulmak amacı ile planlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasallar ve Yöntemler

3.1.1. Sentez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar

Tasarlanan bileşiklerin sentezinde 2,4-dimetoksibenzaldehit (Acros), 3,4-dimetoksibenzaldehit (Aldrich), 4-floroasetofenon (Aldrich), 4-kloroasetofenon (Fluka), asetofenon (Merck), parahidrazinobenzen-sülfanilamit hidroklorür (ABCR), metil alkol (Aldrich), etil alkol (Aldrich), %37'lik hidroklorik asit (Merck), glasiyal asetik asit (Merck), kloroform (Aldrich), aseton (Aldrich), DMSO- d_6 (Merck), sodyum hidroksit (Merck) kullanılmıştır.

3.1.2. Yöntemler

Kromatografik Analizler

Sentez çalışmaları sırasında reaksiyonu takip etmek ve sentezlenen bileşiklerin saflıklarını kontrol etmek amacıyla İnce Tabaka Kromatografisi'nden (İ.T.K.) yararlanıldı. İ.T.K. için 0.25 mm kalınlıktaki silikajel 60 HF₂₅₄ (Merck 1.05554.0001) hazır kromatografi plakları kullanıldı. Hareketli faz sistemi olarak kloroform:metil alkol (4.8:0.2) kullanıldı. Açık havada kurutulan plaklar üzerindeki lekelerin belirlenmesinde 254 nm dalga boyundaki UV ışığından faydalanıldı.

Spektral Analizler

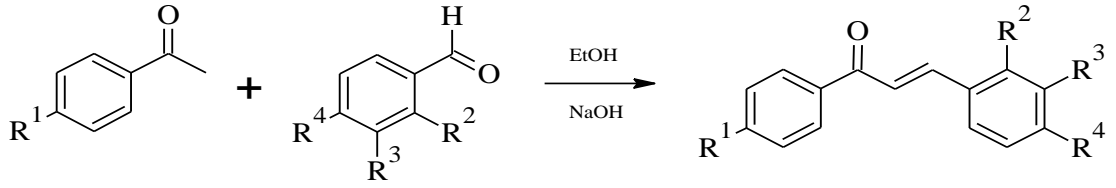
Bileşiklerin ¹H NMR (400 MHz) ve ¹³C NMR (100 MHz) spektrumları DMSO- d_6 (Merck) içerisinde, Varian spektrofotometre (Danbury, U.S.A.) de alındı. Bileşiklerin kütle spektrumları elektron spray iyonizasyon yöntemi ile MS (ESI-MS) VG Waters Micromass ZQ (USA) spektrometresinde alınmıştır.

Erime Noktası Tayinleri

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

3.2. 3-(Süstitüefenil)-1-(4-süstitüefenil)-2-propen-1-on'ların (A1- A6)

(Şalkon Türevi Bileşikler) Genel Sentez Yöntemi



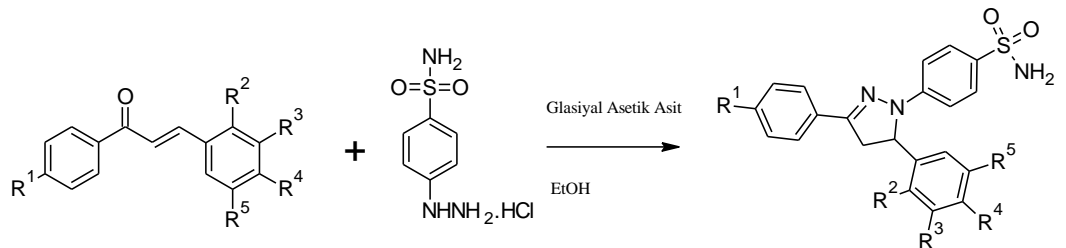
R¹=H, F, Cl **A1-A6**

R², R⁴/R³, R⁴=OCH₃

Şekil 3.1. Şalkonların (A1-A6) genel sentez yöntemi

Şalkonlar bazik koşullarda Claisen-Schmidt kondenzasyonu ile sentezlenmiştir.²⁹ İlgili keton ve aldehit türevi başlangıç maddeleri etil alkol (10 ml) içinde çözüldükten sonra karışımın üzerine 20 ml soğuk NaOH (%10) çözeltisi damla damla ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında karıştırıldı. Tepkimenin ilerleyişi İ.T.K. ile takip edildi. Tepkime sonunda balon içeriği buzlu suya döküldükten sonra yeterince HCl çözeltisi (%10) ile nötrleştirildi. Elde edilen katının saflığı İ.T.K. ile kontrol edildikten sonra ileri bir saflaştırma yapılmadan ikinci aşama olan pirazol sentezinde kullanıldı. Şalkonların genel sentez yöntemi Şekil 3.1'de sunulmuştur.

3.3. 4-[5-(2,4/3,4-Dimetoksifenil)-3-süstitüefenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]Benzensülfonamid'lerin (B1-B6) (Pirazolin Türevi Bileşikler Genel Sentez Yöntemi



R¹: H/ F/ Cl **B1-B6**

R², R⁴/R³, R⁴: OCH₃

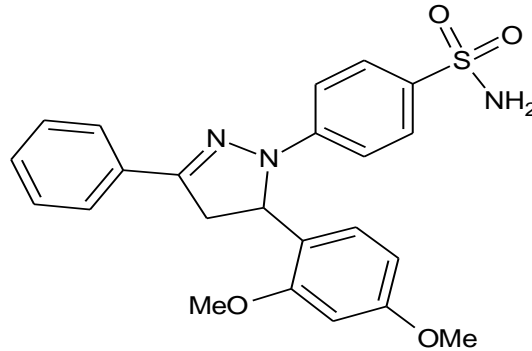
Şekil 3.2. Pirazolin tipi bileşiklerin (B1-B6) genel sentez yöntemi

Uygun şalkon bileşiği (**A1-A6**) ve parahidrazinobenzen-sülfo-namit hidroklorür bileşiği, sırasıyla 1:1,1 veya 1:1 mol oranında alınarak yeterince etil alkol içerisinde, katalitik miktarda glasiyal asetik asit varlığında geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Tepkimenin yürüyüşü İ.T.K. ile CHCl₃:MeOH (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. Tepkime sonunda balon içeriği oda ısısına soğutuldu. Çöken katı süzülüp kurutulduktan sonra uygun çözücü veya çözücü karışımlarından kristallendirilerek **B1-B6** bileşikleri elde edildi. Pirazolinlerin (**B1-B6**) genel sentez yöntemi Şekil 3.2.'de, sentezlenen bileşiklerin deneysel verileri ise Tablo 4.4.'de sunulmuştur. Her bir bileşiğin detaylı sentezi aşağıda sırasıyla verilmiştir.

3.4. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]

benzen-sülfo-namit sentezi, **B1**

3-(2,4-Dimetoksifenil)-1-(4-fenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.86 mmol, **A1**) ve para hidrazinobenzen-sülfo-namit hidroklorür (0.43 g, 1.86 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çözeltinin rengi sarı olarak gözlemlendi. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve CHCl₃: MeOH (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 12 saat sonra reaksiyona son verildi. Oda sıcaklığında bekletildikten sonra çöken beyaz renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil alkolden kristallendirildi. (% 35). Bileşiğin erime noktası 206 °C'dir.



Şekil 3.3. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzen-sülfo-namit,**B1**

¹H NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.4.) B1

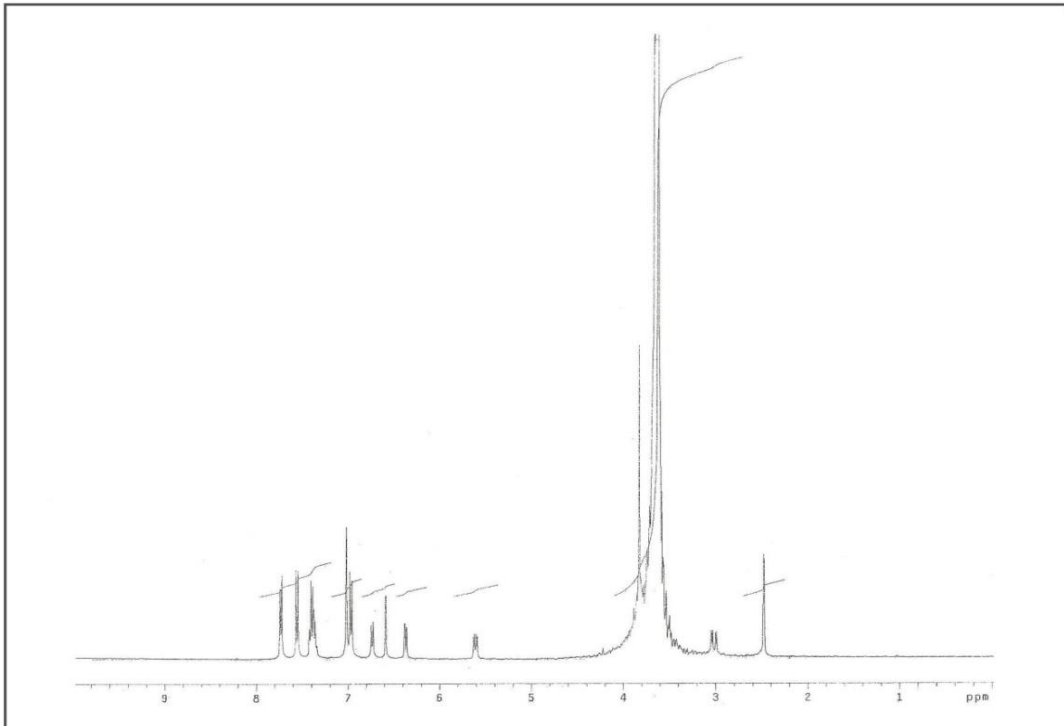
δ (ppm) : 7.73 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.36 (m, 3H, Ar-H), 7.02 (s, 2H, -SO₂NH₂), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.59 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.37 (dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, 2H, Ar-H), 5.61 (dd, *J* = 12.0, 4.9 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.83 (s, 3H, -OCH₃), 3.68 (s, 3H, -OCH₃), 3.01 (dd, *J*=17.8, 4.9 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.5.) B1

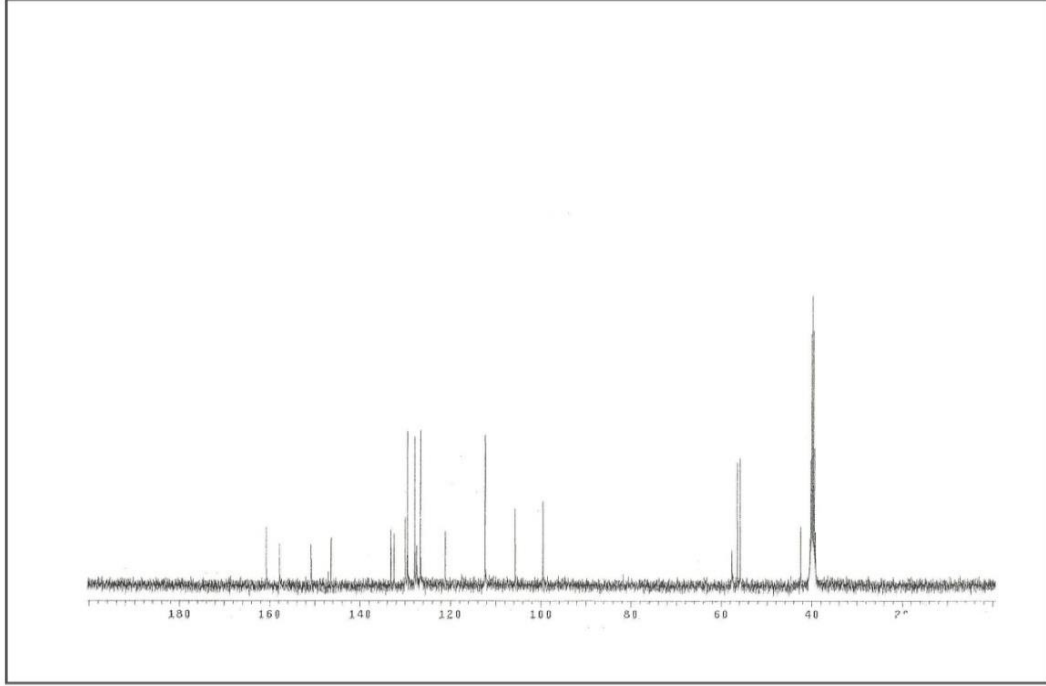
δ (ppm) : 160.8, 157.9, 150.9, 146.5, 133.2, 132.5, 129.9, 129.4, 127.8, 127.4, 126.6, 121.1, 112.3, 105.7, 99.6, 57.7 (C-5 pirazolin), 56.4 (-OCH₃), 55.8 (-OCH₃), 42.5 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.6.) B1

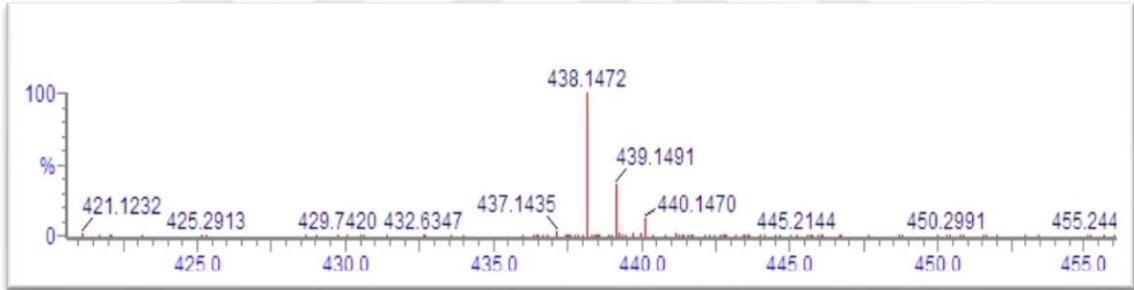
C₂₃H₂₄N₃O₄S, Hesaplanan [M+H]⁺: 438.1488 Bulunan [M+H]⁺: 438.1472



Şekil 3.4. B1 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



Şekil 3.5. B1 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



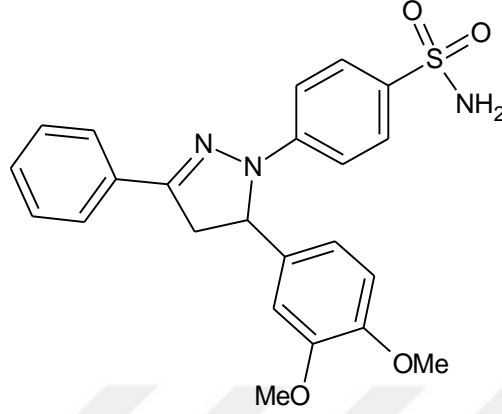
Şekil 3.6. B1 bileşiğinin kütle spektrumu

3.5. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]

benzensülfonamid sentezi, B2

3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(4-fenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.86 mmol, **A2**) ve parahidrazinobenzen-sülfonamid hidroklorür (0.43 g, 1.86 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çözeltinin rengi turuncu olarak gözlemlendi. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve CHCl₃: MeOH (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 17 saat sonra reaksiyona son verildi.

Oda sıcaklığında bekletildikten sonra çöken beyaz renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil alkolden kristallendirildi. (% 22). Bileşiğin erime noktası 176 °C'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası bulunamamıştır.



Şekil 3.7. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid, **B2**.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.8.) B2

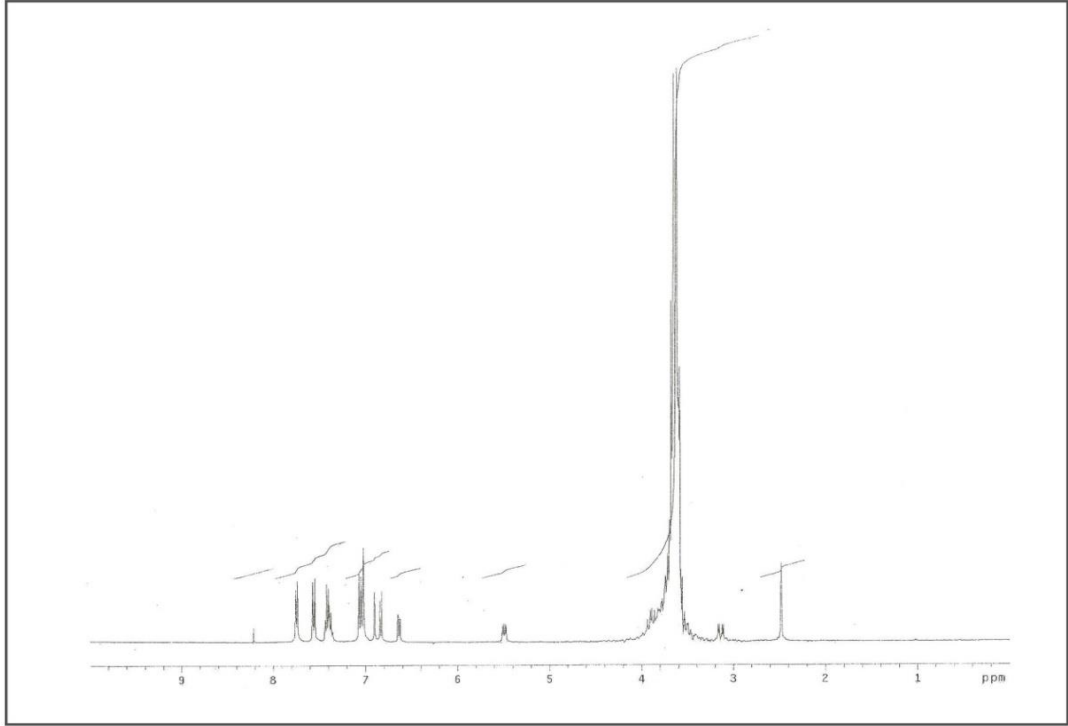
δ (ppm) :7.75 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, Ar-H), 7.44-7.37 (m, 3H, Ar-H), 7.06 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, Ar-H), 7.03 (s, 2H, -SO₂NH₂), 6.91 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.64 (dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, 2H, Ar-H), 5.48 (dd, $J = 12.1, 5.5$ Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.88 (dd, $J = 17.6, 12.1$ Hz, 1H, H-4 (pirazolin)), 3.68 (s, 3H, -OCH₃), 3.58 (s, 3H, -OCH₃), 3.14 (dd, $J = 17.6, 5.5$ Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.9.) B2

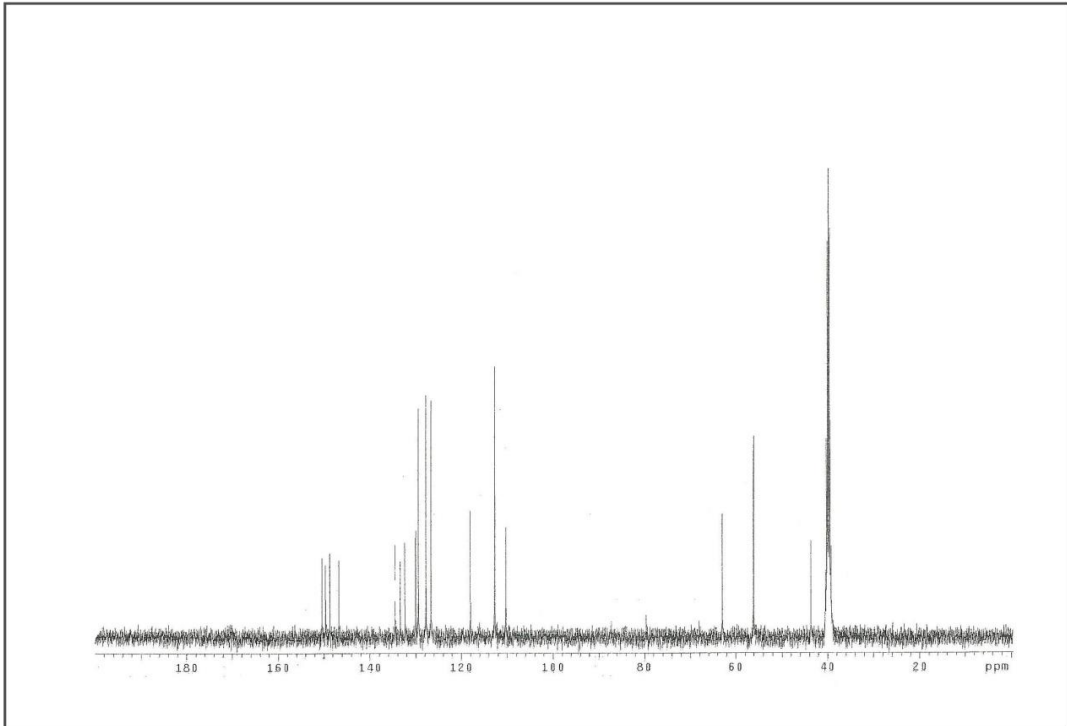
δ (ppm) :150.5, 149.7, 148.7, 146.8, 134.5, 133.5, 132.4, 130.0, 129.5, 127.8, 126.7, 118.0, 112.8, 110.3, 62.9 (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH₃), 56.0 (-OCH₃), 43.7 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.10.) B2

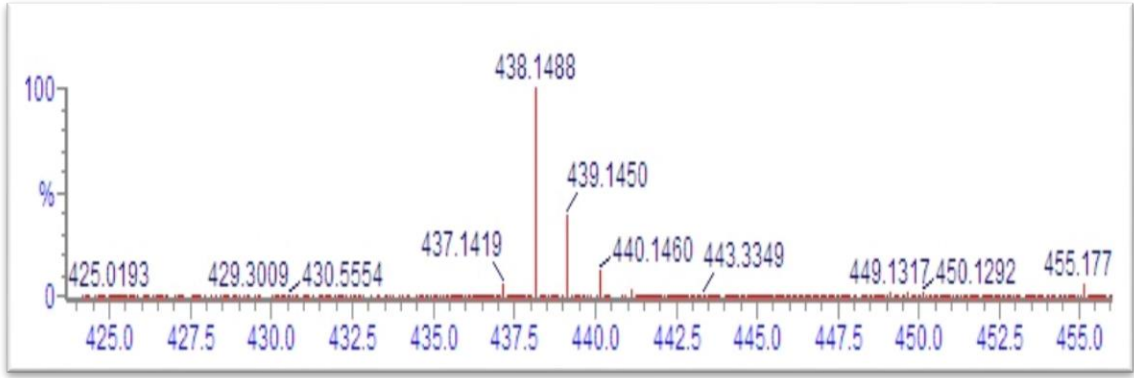
C₂₃H₂₄N₃O₄S , Hesaplanan [M+H]⁺: 438.1488 Bulunan [M+H]⁺: 438.14



Şekil 3.8. B2 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



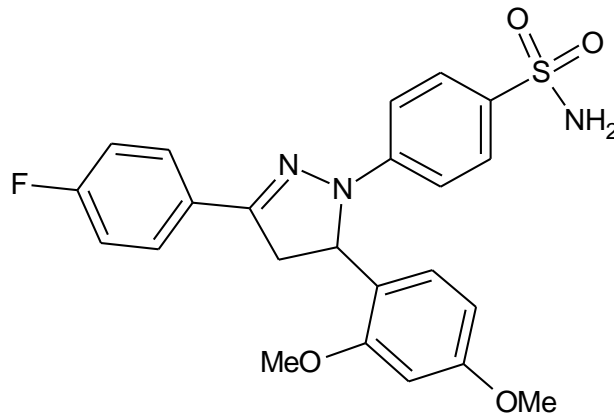
Şekil 3.9. B2 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



Şekil 3.10. B2 bileşiğinin kütle spektrumu

3.6. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamid sentezi, B3

3-(2,4-Dimetoksifenil)-1-(4-florofenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.75 mmol, **A3**) ve parahidrazinobenzenesülfonamid hidroklorür (0.43 g, 1.93 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altındaısıtıldı. Çözeltinin rengi sarı olarak gözlemlendi. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 17 saat sonra reaksiyona son verildi. Oda sıcaklığında bekletildi. Çözeltinin rengi yeşile döndü. Çöken sarı renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil alkolden kristallendirildi. (% 48). Bileşiğin erime noktası $188\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası $178\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir.²³



Şekil 3.11. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzenesülfonamid, **B3**

^1H NMR (DMSO- d_6) (Şekil 3.12.) B3

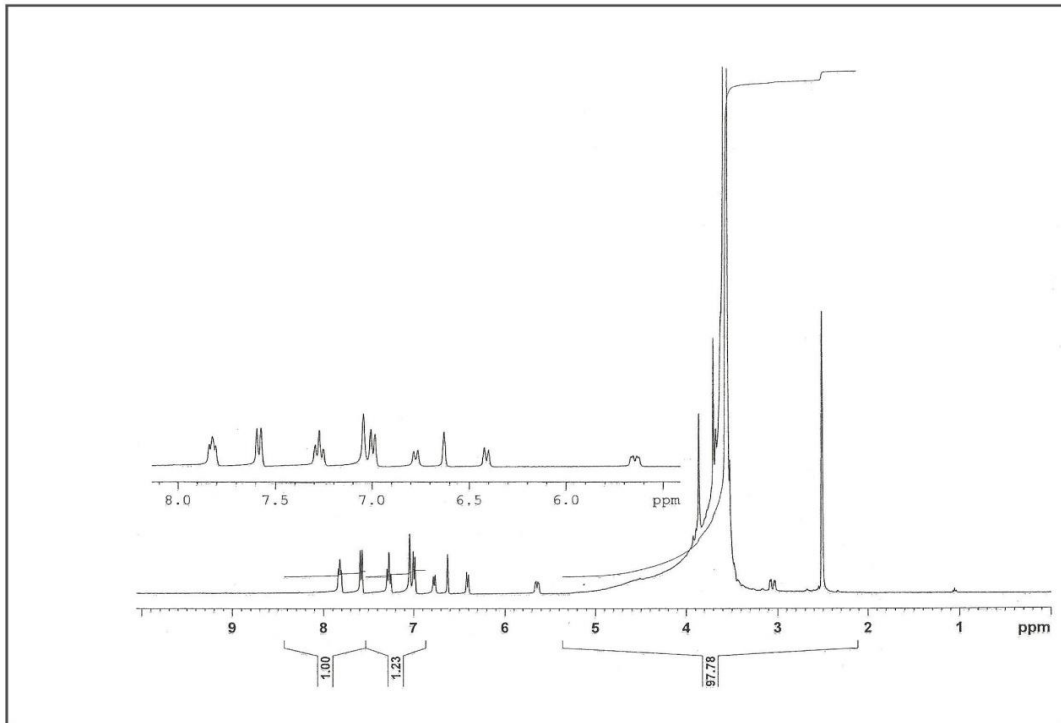
δ (ppm) : 7.80 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (s, 2H, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$), 6.98 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, Ar-H), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.62 (s, 1H, Ar-H), 6.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H) 5.62 (dd, $J = 11.5, 4.3$ Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.86 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.69 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.05 (dd, $J = 17.6, 4.3$ Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) (Şekil 3.13.) B3

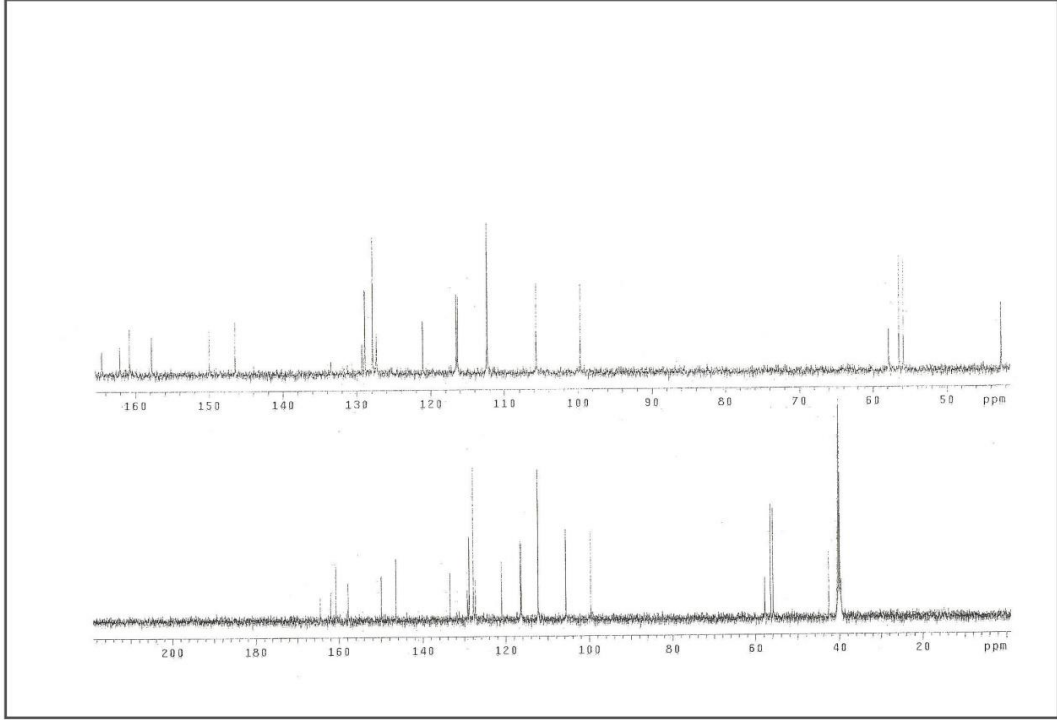
δ (ppm) :164.5 (d, $^1J_{\text{CF}} = 246$ Hz), 160.8, 157.8, 149.9, 146.5, 133.5, 129.3, 128.9 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.4$ Hz), 127.9, 127.3, 121.1, 116.4 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.1$ Hz), 112.3, 105.7, 99.7, 57.8 (C-5 pirazolin), 56.5 ($-\text{OCH}_3$), 55.9 ($-\text{OCH}_3$), 42.6 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.14.) B3

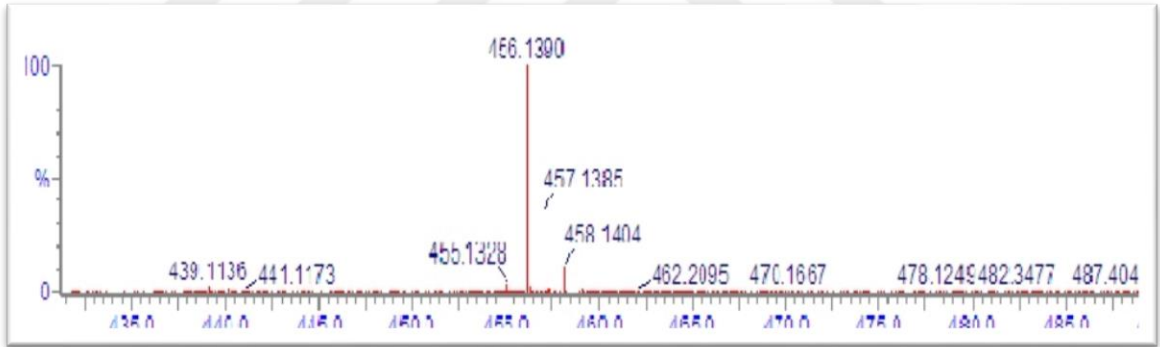
$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4\text{SF}$, Hesaplanan $[\text{M}+\text{H}]^+$: 456.1393 Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$: 456.1390



Şekil 3.12. B3 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



Şekil 3.13. B3 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu

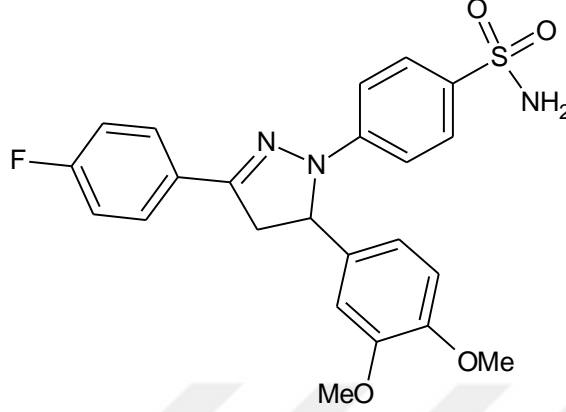


Şekil 3.14. B3 bileşiğinin kütle spektrumu

3.7. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamid sentezi, B4

3-(3,4-Dimetoksifenil)-1-(4-florofenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.75 mmol, **A4**) ve parahidrazinobenzenesülfonamid hidroklorür (0.44 g, 1.93 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çözeltinin rengi koyu sarı olarak gözlemlendi. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve CHCl₃:MeOH (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 3 saat sonra

reaksiyona son verildi. Oda sıcaklığında bekletildikten sonra çöken açık kahverengi renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil alkolden kristallendirildi. (%32). Bileşiğin erime noktası 201 °C'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası 198 °C' dir.²³



Şekil 3.15. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il] benzenesülfonamid, **B4**.

¹H NMR (DMSO-d₆) (Şekil 3.16.) B4

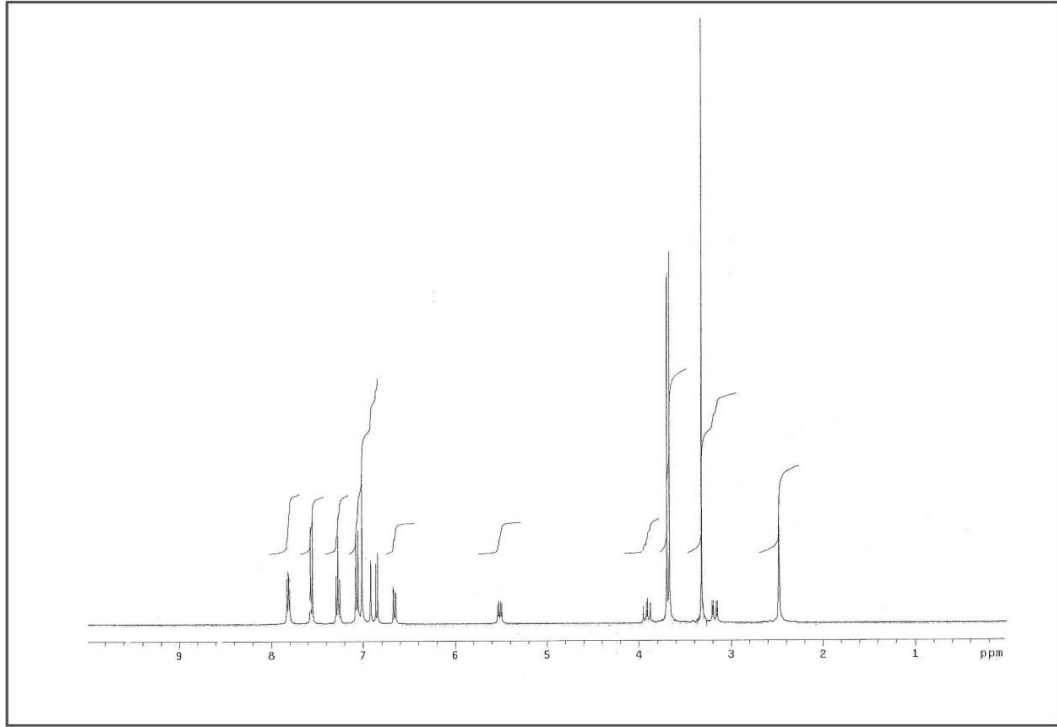
δ (ppm) :7.82 (dd, *J* = 5.5, 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.27 (t, *J* = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.06 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (s, 2H, -SO₂NH₂), 6.92 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, Ar-H), 6.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.66 (dd, *J* = 8.3, 1.9 Hz, 1H, Ar-H), 5.51 (dd, *J* = 12.0, 5.5 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.90 (dd, *J* = 17.6, 12.0 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).3.69 (s, 3H, -OCH₃), 3.67 (s, 3H, -OCH₃), 3.18 (dd, *J* = 17.6, 5.5 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

¹³C NMR (DMSO-d₆) (Şekil 3.17.) B4

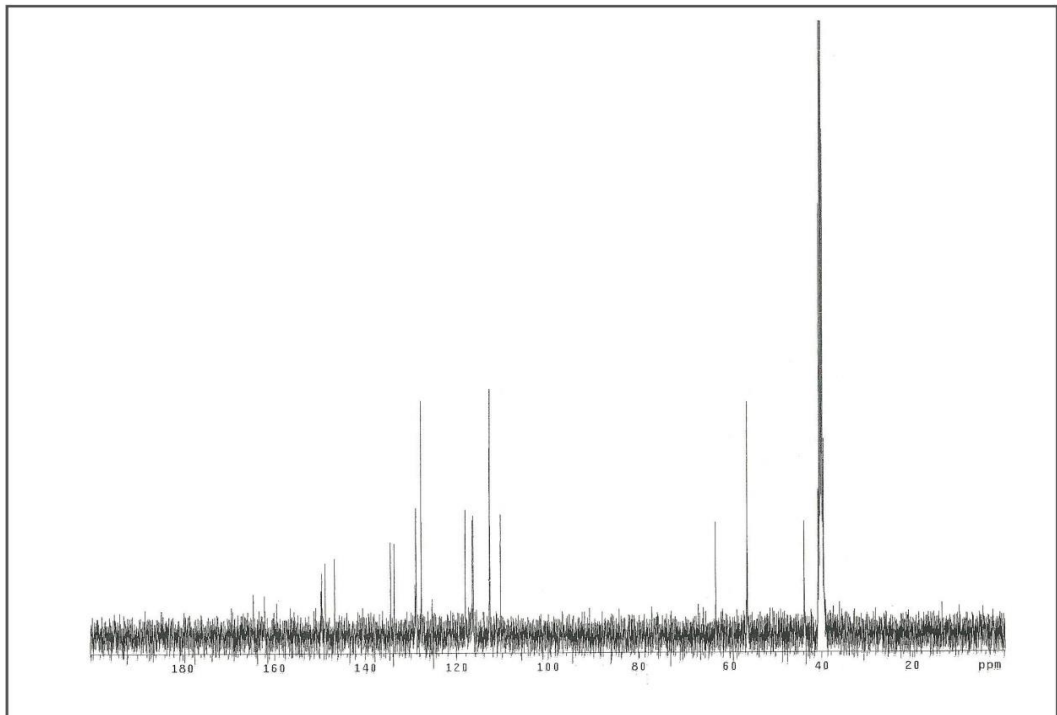
δ (ppm) :164.6, 149.6, 148.8, 146.8, 134.5, 133.7, 129.2, 128.9 (d, ³*J*_{CF} = 8.3 Hz), 127.8, 118.1,116.6, 116.3, 112.8, 112.7, 110.4, 63.1 (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH₃), 56.0 (-OCH₃), 43.8 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.18.) B4

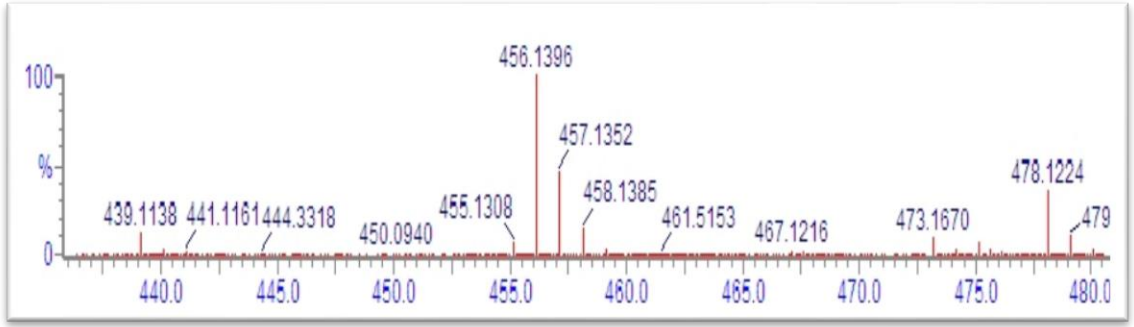
C₂₃H₂₃N₃O₄SF, Hesaplanan [M+H]⁺: 456.1393 Bulunan [M+H]⁺: 456.1390



Şekil 3.16. B4 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



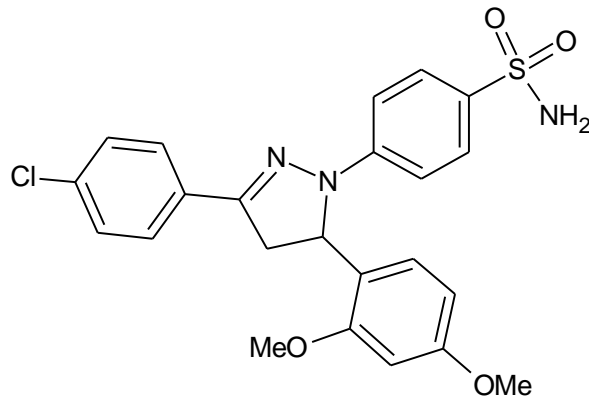
Şekil 3.17. B4 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



Şekil 3.18. B4 bileşiğinin kütle spektrumu

3.8. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamid sentezi, B5

3-(2,4-Dimetoksifenil)-1-(4-klorofenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.65 mmol, A5) vep-hidrazino benzensülfonamid hidroklorür (0.42 g, 1.82 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Çözeltinin rengi berrak sarı olarak gözlemlendi. Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 19 saat sonra reaksiyona son verildi. Oda sıcaklığında bekletildi. Çöken sarı renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil alkolden kristallendirildi. (%57). Bileşiğin erime noktası $217\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. Bileşiğin literatürdeki erime noktası $208\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir.²³



Şekil 3.19. 4-[5-(2,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamid, B5.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.20.) B5

δ (ppm) : 7.74 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d,

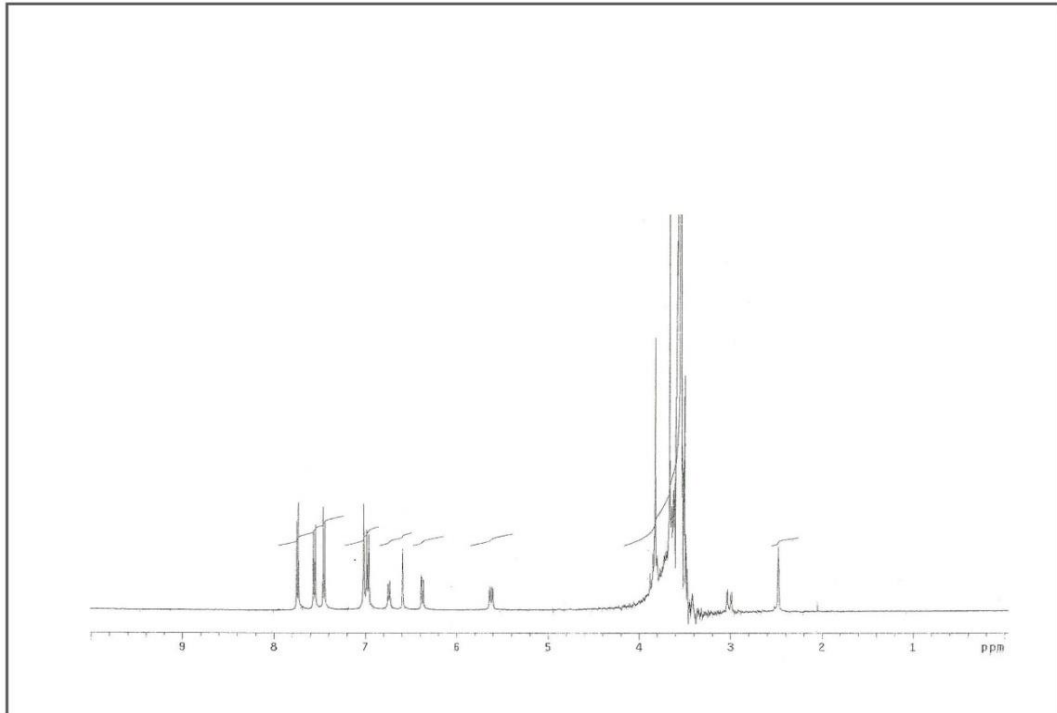
$J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (s, 2H, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, Ar-H), 6.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.59 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, Ar-H), 6.34 (dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, 1H, Ar-H), 5.61 (dd, $J = 12.0, 5.1$ Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.83 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.67 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3.01 (dd, $J = 17.6, 5.1$ Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

^{13}C NMR (DMSO- d_6) (Şekil 3.21.) B5

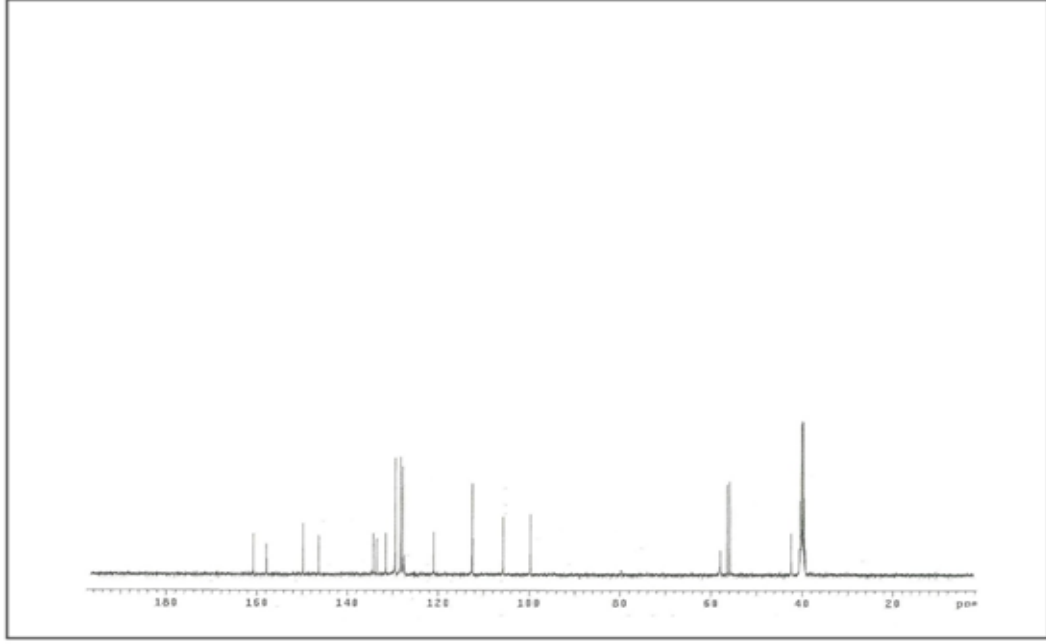
δ (ppm) : 160.8, 157.9, 149.8, 146.3, 134.3, 133.5, 131.5, 129.4, 128.3, 127.8, 127.5, 120.9, 112.5, 105.7, 99.6, 57.9 (C-5 pirazolin), 56.4 ($-\text{OCH}_3$), 55.8 ($-\text{OCH}_3$), 42.3 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.22.) B5

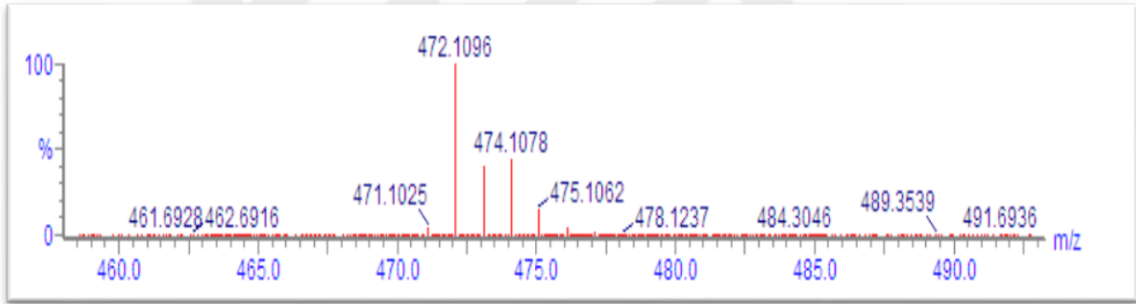
$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4\text{SCl}$, Hesaplanan $[\text{M}+\text{H}]^+$: 472.1098 Bulunan $[\text{M}+\text{H}]^+$: 472.1096



Şekil 3.20. B5 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu



Şekil 3.21. B5 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



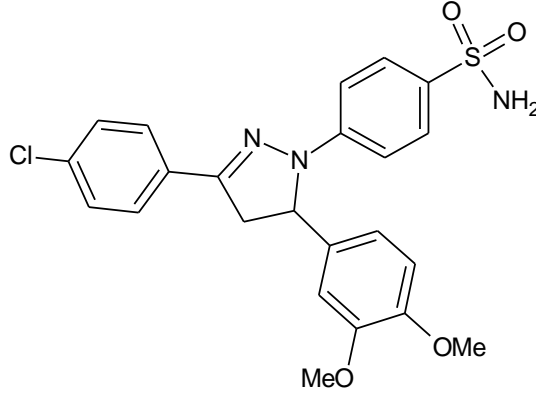
Şekil 3.22. B5 bileşiğinin kütle spektrumu

3.9. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamit sentezi, B6

3-(3,4-Dimetoksifenil)-1-(4-klorofenil)-2-propen-1-on (0.5 g, 1.65 mmol, **A6**) ve parahidrazinobenzensülfonamit hidroklorür (0.42 g, 1.82 mmol)'ün etil alkol (25 ml) içindeki karışımı 0.05 ml glasiyal asetik asit katalizörlüğünde geri çeviren soğutucu altındaisıtıldı. Çözeltinin rengi berrak sarı olarak gözlemlendi.

Reaksiyonun yürüyüşü İ.T.K. ile ve CHCl₃:MeOH (4.8:0.2) çözücü sistemi kullanılarak izlendi. 19 saat sonra reaksiyona son verildi. Oda sıcaklığında bekletildikten sonra çöken sarı renkli katı madde süzülüp kurutulduktan sonra etil

alkolden kristallendirildi. (% 68). Bileşğin erime noktası 182 °C'dir. Bileşğin literatürdeki erime noktası 184 °C' dir.²³



Şekil 3.23. 4-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzenüsulfonamit, **B6**.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.24.) B6

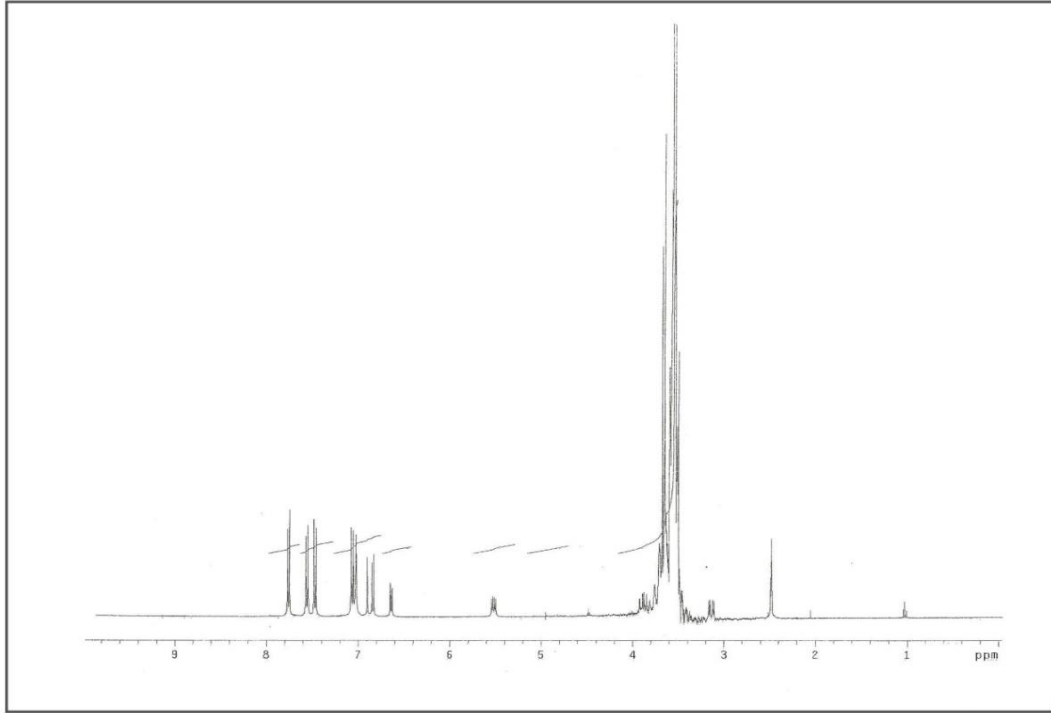
δ (ppm) :7.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.47 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.07 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.03 (s, 2H, -SO₂NH₂), 6.90 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.64 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 5.51 (dd, *J* = 12.0, 5.3 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.88 (dd, *J* = 17.8, 12.0 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)), 3.68 (s, 3H, -OCH₃), 3.65 (s, 3H, -OCH₃), 3.14 (dd, *J* = 17.8, 5.3 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆) (Şekil 3.25.) B6

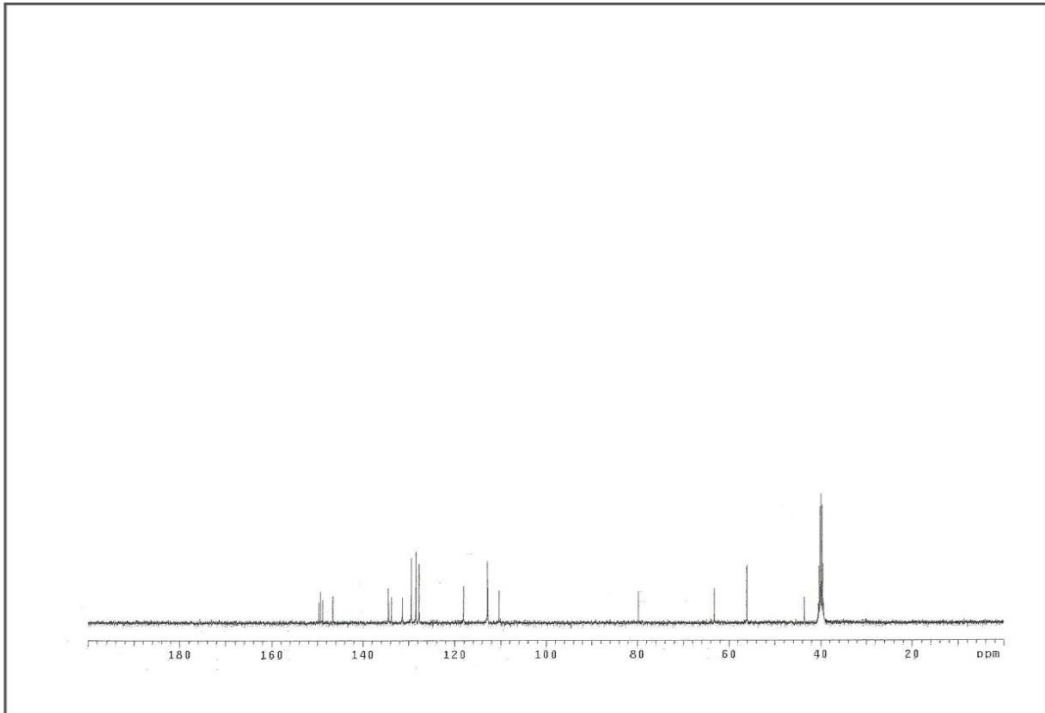
δ (ppm) :149.7, 149.4, 148.8, 146.6, 134.4, 134.3, 133.8, 131.4, 129.5, 128.4, 127.8, 118.1, 112.9, 112.7, 110.3, 63.2, (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH₃), 56.0 (-OCH₃), 43.5 (C-4 pirazolin).

HRMS (ESI-MS) (Şekil 3.26.) B6

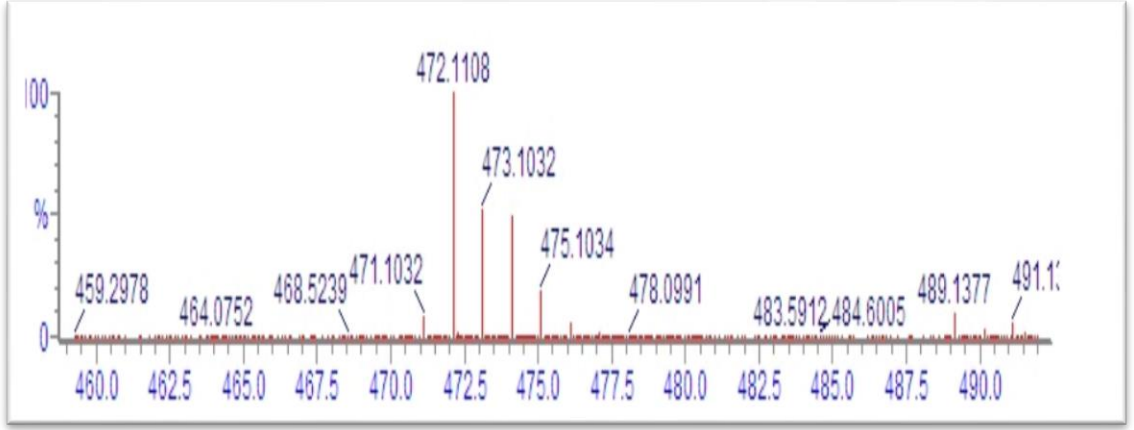
C₂₃H₂₃N₃O₄SCl, Hesaplanan [M+H]⁺: 472.1098 Bulunan [M+H]⁺: 472.1108



Şekil 3.24. B6 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



Şekil 3.25. B6 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



Şekil 3.26. B6 bileşiğinin kütle spektrumu

3.10. Biyoaktivite Çalışmaları

3.10.1. Gereç ve Yöntem

Materyal

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Invitrogen, Carlsbad, CA, ABD); fetal bovine serum (FBS, SAFC Biosciences, St. Louis, MO, ABD); RPMI1640 medium, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) dimetil sülfoksit (DMSO, Wako Pure Chemical, Osaka, Japonya), melfalan (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, ABD) kullanılmıştır. Hücre kültüründe kullanılan tüm hücreler %10 ısı ile inaktive edilmiş, FBS ve antibiyotik (100 unite/ml penicillin G ve 100 µg/ml streptomisin sülfat) eklenerek DMEM ortamında 37⁰C' de kültüre edilmişlerdir. İnsan ağız skuamöz hücre karsinomu (OSCC) hücreleri (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4) Japonya' nın Showa Üniversitesinden Prof. Nagumo'dan sağlanmıştır.

3.10.2. Sitotoksik Aktivite Ölçülmesi

Hücreler 96 kuyucuklu (Becton Dickenson, Flanklin Lakes, NJ, ABD) platalere ekilmiş ve hücrelerin tutunması için 48 saat inkübe edilmiştir. Hücreler alanı kaplayacak kadar çoğaldığında 48 saat boyunca taze medyunda hazırlanmış farklı konsantrasyonlarda numuneler eklenmiştir. Relatif tutunmuş canlı hücre sayısı MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Yüzen hücrelerin canlılığı ise tripan mavisıyla boyayarak bir

hemositometre ile sayma yoluyla belirlenmiştir. %50 sitotoksik doz (CC_{50}) doz-yanıt eğrisinden belirlenmiştir.³⁰



4. BULGULAR

4.1. Deneysel ve Spektral Bulgular

Tez kapsamında sentezi tasarlanan bileşikler başarıyla sentezlenmiş ve saflaştırılmıştır. Bileşiklere ait ^1H NMR, ^{13}C NMR, HRMS spektrum değerleri topluca sırasıyla Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3’de, deneysel veriler ise Tablo 4.4’de sunulmuştur.

Spektrumlar ve değerlendirmeleri deneysel bölümde detaylı bir biçimde verilmiştir.

4.2. Biyoaktivite Bulguları

Sentezlenen **B1-B6** bileşikleri insan Ca9-22 (diş eti), HSC-2 (ağız), HSC-3 (dil), HSC-4 (dil) oral hücre karsinomalarına karşı değerlendirilmiştir. Ek olarak bu bileşikler malign olmayan HGF gingival fibroblastlar, HPC pulp hücrelerine ve HPLF peridontal ligament fibroblastlara karşı da test edilmiş ve bileşiklere ait veriler Tablo 4.5’de sunulmuştur.

Tablo 4.1. B1-B6 bileşiklerinin ¹H NMR verileri

Bileşik Kodu	¹ H NMR (DMSO- <i>d</i> ₆)
B1	δ (ppm) 7.73 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.36 (m, 3H, Ar-H), 7.02 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.97 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.73 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.59 (d, <i>J</i> = 2.0 Hz, 1H, Ar-H), 6.37 (dd, <i>J</i> = 8.4, 2.0 Hz, 2H, Ar-H), 5.61 (dd, <i>J</i> = 12.0, 4.9 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.83 (s, 3H, -OCH ₃), 3.68 (s, 3H, -OCH ₃), 3.01 (dd, <i>J</i> =17.8, 4.9 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).
B2	δ (ppm) 7.75 (d, <i>J</i> = 7.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.44-7.37 (m, 3H, Ar-H), 7.06 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 1H, Ar-H), 7.03 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.91 (d, <i>J</i> = 1.8 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.64 (dd, <i>J</i> = 8.0, 1.8 Hz, 2H, Ar-H), 5.48 (dd, <i>J</i> = 12.1, 5.5 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.88 (dd, <i>J</i> = 17.6, 12.1 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)), 3.68 (s, 3H, -OCH ₃), 3.58 (s, 3H, -OCH ₃), 3.14 (dd, <i>J</i> = 17.6, 5.5 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).
B3	δ (ppm) 7.80 (t, <i>J</i> = 6.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.57 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (t, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.98 (d, <i>J</i> = 7.3 Hz, 2H, Ar-H), 6.75 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.62 (s, 1H, Ar-H), 6.39 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H) 5.62 (dd, <i>J</i> = 11.5, 4.3 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.86 (s, 3H, -OCH ₃), 3.69 (s, 3H, -OCH ₃), 3.05 (dd, <i>J</i> = 17.6, 4.3 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).
B4	δ (ppm) 7.82 (dd, <i>J</i> = 5.5, 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.27 (t, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.06 (d, <i>J</i> = 9.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.92 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1H, Ar-H), 6.85 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.66 (dd, <i>J</i> = 8.3, 1.9 Hz, 1H, Ar-H), 5.51 (dd, <i>J</i> = 12.0, 5.5 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.90 (dd, <i>J</i> = 17.6, 12.0 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)), 3.69 (s, 3H, -OCH ₃), 3.67 (s, 3H, -OCH ₃), 3.18 (dd, <i>J</i> = 17.6, 5.5 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).
B5	δ (ppm) 7.74 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.98 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.74 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.59 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.34 (dd, <i>J</i> = 8.8, 2.6 Hz, 1H, Ar-H), 5.61 (dd, <i>J</i> = 12.0, 5.1 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.83 (s, 3H, -OCH ₃), 3.67 (s, 3H, -OCH ₃), 3.01 (dd, <i>J</i> = 17.6, 5.1 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).
B6	δ (ppm) 7.76 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.47 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.07 (d, <i>J</i> = 9.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.03 (s, 2H, -SO ₂ NH ₂), 6.90 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.84 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.64 (dd, <i>J</i> = 8.2, 2.1 Hz, 1H, Ar-H), 5.51 (dd, <i>J</i> = 12.0, 5.3 Hz, 1H, H-5 (pirazolin)), 3.88 (dd, <i>J</i> = 17.8, 12.0 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)), 3.68 (s, 3H, -OCH ₃), 3.65 (s, 3H, -OCH ₃), 3.14 (dd, <i>J</i> = 17.8, 5.3 Hz, 1H, H-4 (pirazolin)).

Tablo 4.2. B1-B6 bileşiklerinin ¹³C NMR verileri

Bileşik Kodu	¹³ C NMR (DMSO- <i>d</i> ₆)
B1	δ (ppm) 160.8, 157.9, 150.9, 146.5, 133.2, 132.5, 129.9, 129.4, 127.8, 127.4, 126.6, 121.1, 112.3, 105.7, 99.6, 57.7 (C-5 pirazolin), 56.4 (-OCH ₃), 55.8 (-OCH ₃), 42.5 (C-4 pirazolin).
B2	δ (ppm) 150.5, 149.7, 148.7, 146.8, 134.5, 133.5, 132.4, 130.0, 129.5, 127.8, 126.7, 118.0, 112.8, 110.3, 62.9 (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH ₃), 56.0 (-OCH ₃), 43.7 (C-4 pirazolin).
B3	δ (ppm) 164.5 (d, ¹ J _{CF} = 246 Hz), 160.8, 157.8, 149.9, 146.5, 133.5, 129.3, 128.9 (d, ³ J _{CF} = 8.4 Hz), 127.9, 127.3, 121.1, 116.4 (d, ² J _{CF} = 22.1 Hz), 112.3, 105.7, 99.7, 57.8 (C-5 pirazolin), 56.5 (-OCH ₃), 55.9 (-OCH ₃), 42.6 (C-4 pirazolin).
B4	δ (ppm) 164.6, 149.6, 148.8, 146.8, 134.5, 133.7, 129.2, 128.9 (d, ³ J _{CF} = 8.3 Hz), 127.8, 118.1, 116.6, 116.3, 112.8, 112.7, 110.4, 63.1 (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH ₃), 56.0 (-OCH ₃), 43.8 (C-4 pirazolin).
B5	δ (ppm) 160.8, 157.9, 149.8, 146.3, 134.3, 133.5, 131.5, 129.4, 128.3, 127.8, 127.5, 120.9, 112.5, 105.7, 99.6, 57.9 (C-5 pirazolin), 56.4 (-OCH ₃), 55.8 (-OCH ₃), 42.3 (C-4 pirazolin).
B6	δ (ppm) 149.7, 149.4, 148.8, 146.6, 134.4, 134.3, 133.8, 131.4, 129.5, 128.4, 127.8, 118.1, 112.9, 112.7, 110.3, 63.2, (C-5 pirazolin), 56.1 (-OCH ₃), 56.0 (-OCH ₃), 43.5 (C-4 pirazolin).

Tablo 4.3. B1-B6 bileşiklerinin HRMS verileri

Bileşik Kodu	Kapalı Formül	Hesaplanan [M+H] ⁺	Bulunan [M+H] ⁺
B1	C ₂₃ H ₂₄ N ₃ O ₄ S	438.1488	438.1472
B2	C ₂₃ H ₂₄ N ₃ O ₄ S	438.1488	438.1488
B3	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₄ SF	456.1393	456.1390
B4	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₄ SF	456.1393	456.1390
B5	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₄ Cl	472.1098	472.1096
B6	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₄ Cl	472.1098	472.1108

Tablo 4.4. B1-B6 bileşiklerinin deneysel verileri

Bileşik Kodu	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Erime Derecesi (Literatür)	Erime Derecesi (Bulunan)	Verim %
B1	H	CH ₃		CH ₃	H	-	206	35
B2	H		CH ₃	CH ₃	H	-	176	22
B3	F	CH ₃		CH ₃	H	178 ²³	188	48
B4	F		CH ₃	CH ₃	H	198 ²³	201	32
B5	Cl	CH ₃		CH ₃	H	208 ²³	217	57
B6	Cl		CH ₃	CH ₃	H	184 ²³	182	68

“- “ Literatürde kayıt yoktur.

Tablo 4.5. B1-B6 bileşiklerinin sitotoksosite sonuçları

Bileşikler	CC ₅₀ (µM)												TS	
	İnsan oral skuamöz kanser hücre hatları						İnsan normal oral hücreleri							
	Ca922 (A)	HSC-2	HSC-3	HSC-4	Ort. (B)	SS	HGF (C)	HPLF	HPC	Ort. (D)	SS	(D)/(B)	(C)/(A)	
B1	27	41	41	35	36.0	6.6	31	41	29	33.7	6.4	0.9	1.1	
B2	21	200	200	44	116.3	97.2	29	112	28	56.3	48.2	0.5	1.4	
B3	65	42	41	35	45.8	13.2	37	37	35	36.3	1.2	0.8	0.6	
B4	24	152	177	33	96.5	79.3	25	139	80	81.3	57.0	0.8	1.0	
B5	19	22	23	23	21.8	1.9	19	23	21	21.0	2.0	1.0	1.0	
B6	16	21	25	18	20.0	3.9	22	41	17	26.7	12.7	1.3	1.4	
Pozitif kontrol														
Doksorubisin	0.27	.12	.13	.078	.15		0.16	0.27	0.28	0.24		1.6	0.6	
5-Florourasil	55.1	4.4	2.7	8.9	7.8		200	200	>200	>200		>4.2	>3.6	
Melfalan	40.3	3.6	1	0.3	8.80		200	151.0	>175.5	>175.2		>9.3	>4.9	

*Ort: Ortalama, SS: Standart sapma, TS: Tümör selektivitesi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada ilk olarak asetofenon, florasetofenon, ve klorasetofenondan hareketle çeşitli dimetoksi sübtitüe (2,4-dimetoksi ve 3,4 dimetoksi) benzaldehit türevleri ile Claisen Schmidt kondenzasyon yöntemi kullanılarak 6 adet şalkon bileşiği (**A1-A6**) sentezlenmiştir. Bileşiklerin saflığı İ.T.K. ve erime dereceleri ile kontrol edilmiştir. İkinci adımda **A1-A6** şalkon bileşiklerinin parahidrazinobenzensülfonamit hidroklorür ile katalitik miktarda asit ile kondenzasyonu gerçekleştirilerek pirazolin türevi bileşikler 4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-sübtitüefenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamit (**B1-B6**) sentezlenmiştir. Reaksiyonlar % 22-68 verimle [**B1** (%35), **B2** (%22), **B3** (%48), **B4** (%32), **B5** (%57), **B6** (%68)] gerçekleşmiştir. 2,4 dimetoksi türevleri olan **B1** ve **B3** (**B5** hariç); 3,4 dimetoksi türevleri olan **B2** ve **B4** (**B6** hariç) bileşiklerine kıyasla yüksek verimle sentezlenmiştir. Klor sübtitüe türevi olan **B5** ve **B6** bileşikleri diğer bileşiklere nazaran daha yüksek verimle sentezlenirken bu ikisi arasında 3,4 dimetoksi türevi olan **B6** bileşiği, 2,4 dimetoksi türevi olan **B5** bileşiğinden %19 daha yüksek verimle sentezlenmiştir. **B1-B6** bileşiklerinin kimyasal yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşiklerden **B1** ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir. Bileşiklerin ¹H NMR ve ¹³C NMR ve HRMS spektrumları kimyasal yapıları ile uyumludur. Spektral detaylar deneysel bölümde sunulmuştur.

¹H NMR sonuçları incelendiğinde, şalkon türevlerinden parahidrozinobenzensülfonamit hidroklorür ile pirazol halkasının kapandığının göstergesi olan pirazol halkasının 4 ve 5 konumuna ait protonların yarılımları spektrumda görülmüştür. **B1-B6** bileşiklerine ait pirazol halkası 5 nolu proton yarılımları 5.61-5.48 ppm aralığında dd olarak, pirazol halkası 4 nolu proton yarılımları ise 3.18-3.01 ppm aralığında dd olarak görülmüştür. Pirazol halkası 4 konumunda bulunan ikinci protona ait yarılımların 2,4-dimetoksi türevi olan **B1**, **B3** ve **B5** bileşiklerinde NMR çözücüsüne

ait pikin altında kaldığı görülmüştür. 3,4-Dimetoksi türevi **B2**, **B4** ve **B6** bileşiklerinde ise pirazolin 4 konumunda ait ikinci protonun yarılmalari ise 3.90-3.88 ppm aralığında dd olarak görülmüştür. Bütün bileşiklerde ortak olarak bulunan sülfonamit ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) fonksiyonel grubuna ait NH_2 grubu protonlari ise 7.03-7.01 ppm aralığında singlet olarak görülmüştür. Aromatik halkalara ait protonlar ise yapılar ile uyumlu olacak şekilde aromatik sahada, beklenen integrasyonlarda görülmüştür. ^{13}C NMR sonuçlari da sentezlenen bileşiklerin **B1-B6** yapılarını doğrulamaktadır. Pirazol halkasının 5 nolu karbon atomuna ait ^{13}C sinyalleri 63.2-57.7 ppm aralığında, aynı halkasının 4 nolu karbon atomuna ait ^{13}C sinyalleri ise 43.8-42.3 ppm aralığında görülmüştür. Halkaların 2,4- ve 3,4- konumlarına ait metoksi grubu ^{13}C sinyalleri ise 56.5-55.8 ppm aralığında ve singlet olarak görülmüştür. Bileşiklerin sitotoksisite sonuçlari değerlendirildiğinde bileşiklerin 16-200 μM aralığında kanser hücrelerine karşı sitotoksisite gösterdiği belirlenmiştir. Bileşiklerin normal hücrelere karşı sitotoksisitesi 17-139 μM aralığında değişmektedir. Bileşiklerin tümünün sitotoksisitesi referans bileşik olan doksorubisinden düşüktür.

Bileşiklerin sitotoksisiteleri referans bileşik 5-Florourasil (5-FU) ile kıyaslandığında: Ca9-22 hücre hatlarına karşı bileşik **B1** 2.0 kat, bileşik **B2** 2.6 kat, bileşik **B4** 2.3 kat, bileşik **B5** 2.9 kat, bileşik **B6** 3.4 kat ; HSC-2 hücre hatlarına karşı bileşik **B5** 1.1 kat, bileşik **B6** 1.2 kat; HSC-3 hücre hatlarına karşı bileşik **B1** 1.8 kat, bileşik **B3** 1.8 kat, bileşik **B5** 3.2 kat, bileşik **B6** 2.9 kat; HSC-4 hücre hatlarına karşı bileşik **B1** 1.1 kat, bileşik **B3** 1.1 kat, bileşik **B4** 1.2 kat, bileşik **B5** 1.7 kat, bileşik **B6** 2.2 kat referans bileşik 5-FU' den daha güçlü sitotoksisite göstermiştir. Bileşiklerin sitotoksisiteleri referans bileşik Melfalan ile kıyaslandığında; Ca9-22 hücre hatlarına karşı bileşik **B1** 1.5 kat, bileşik **B2** 1.9 kat, bileşik **B4** 1.7 kat, bileşik **B5** 2.1 kat, bileşik

B6 2.5 kat referans bileşik Melfalan' dan 1.5-2.5 (Ca9-22) kat daha güçlü toksisite göstermiştir.

Bileşiklerin genel anlamda Tümör Selektivitesi (TS) normal hücelere karşı gösterilen sitotoksitenin ortalamasının (Tablo 4.5, kolon D) bileşiklerin kanser hücre hatlarına karşı gösterilen sitotoksitelerinin ortalamasına (Tablo 4.5, kolon B) bölünmesi ile bulunmuştur. Buna göre bileşik **B6** en yüksek tümör selektivitesine (TS=1.3) sahiptir. Öte yandan bileşik **B5** TS değeri 1.0 ile seçiciliğe sahip değildir. Diğer bileşikler **B1**, **B2**, **B3** ve **B4** 1'den düşük TS değerine sahiptir. Bu durum adı geçen bileşiklerin kanser hücrelerinden ziyade normal hücelere daha sitotoksik olduğunu gösterir ve antikanser ilaç geliştirme amacı ile örtüşmez. Diğer yandan aynı bileşikler için aynı kökenden türetilen kanser hücre hattı Ca9-22 (Tablo 4.5, kolon A) ve normal hücreler HGF' ye karşı gösterilen sitotoksiteler (Tablo 4.5, kolon C) C/A değerleri hesaplanarak tümör selektivitesi karşılaştırıldığında **B2** ve **B6** 1.4 TS değeri ile en çok sitotoksite gösteren bileşiklerdir. Bileşik **B1** 1.1'lik TS değeri ile 2. sıradadır. Bileşik **B4** ve **B5** ise TS 1 değeri ile normal ve kanserli hücreleri arasında bir seçiciliğe sahip değildir. Bileşik **B3** ise kanser hücrelerinden ziyade normal hücelere karşı daha fazla sitotoksite göstermiştir ve TS değeri 0.6' dır. Bileşik **B3** antikanser bileşik geliştirme amacına hizmet etmez.

Sonuç olarak her iki tip TS hesaplamasında en yüksek TS değerine sahip olan bileşik **B6** çalışılan bileşikler arasında ileriki çalışmalar için model olarak alınabilecek bileşik olarak ortaya çıkmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında sentezlenen bileşikler insan ağız skuamöz kanser hücre hatlarına ve insan ağız normal hücrelerine karşı değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerin söz konusu kanser hücrelerine karşı sitotoksitesi bulunmakla birlikte belirgin ve seçici tümör selektivitesine yani TS değerine sahip değildirler. Fakat her kanser hücresi farklı karakterde ve özellikte olduğundan ve farklı hücrelerle çevrildiğinden sentezlenen bileşikler farklı kanser tiplerine karşı etkili olabilir. Sonuç olarak, her iki hesaplamada en yüksek TS değeri gösteren klor ve 3,4 dimetoksi süstituentlerini içeren 4-[5-(3,4-dimetoksifenil)-3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid yapısına sahip olan bileşik **B6** ilerki sitotoksik araştırma çalışmaları için aday bileşik olarak seçilebilir. Bileşikler genel anlamda söz konusu hücre hatlarına karşı belirgin bir tümör selektivitesi göstermediğinden **B6** bileşiği hariç diğer bileşikler sitotoksik/antikanser bileşikler olarak geliştirmek için çok uygun görünmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Winum RM, Scozzafava A, Montero JL, Supuran CT. Carbonic anhydrase IX: A new druggable target for the design of antitumor agents. *Medicinal Research Reviews*, 2008, 28:445-463.
2. Akgün H, Balkan A, Bilgin AA, Çalış Ü, Dalkara, S., Erdoğan, H., Erol Demir, D., Ertan, M., Gökhan, N., Özkanlı, F., Palaska, E., Saraç, S. ve Şafak, C., Tozkoparan.B. *Farmasötik Kimya-Temel Kavramlar*, 2.Baskı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004.
3. Xu R, Wang Q. Combining automatic table classification and relationship extraction in extracting anticancer drug side effect pairs from full-text articles. *Journal of Biomedical Informatics*, 2015, 53:128-35.
4. Palaska E. *Antikanser İlaçlar*. 2. Baskı, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004.
5. Yanık B. *Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Hücre ve Moleküler Biyolojisi*. Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2012.
6. Engin K, Özyardımcı N, *Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavide İlkeler ve Uygulamalar*, İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık, 2001.
7. Rao GE, Babu PS, Sambrajyam J, Sresta N, Sultana MS, Durga RL, Srikanth K. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of novel chalcones and pyrazoline derivatives from 1-(3-chlorophenyl)ethanone. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2015, 4:731-736.
8. Ugwu D, Ezema B, Eze F, Onoabedje E, Ezema, C, Ekoh, O and Ayogu J. Synthesis and antimalarial activities of chalcone derivatives. *International Journal of ChemTech Research*. 2015, 7:1966-1984.

9. Vembu S, Parasuraman P, Gopalakrishnan M. Design, in silico molecular docking studies, synthesis, spectral characterization and in vitro antifungal evaluation of 1-(4-(1*H*-tetrazole-1-yl) phenyl)-3-arylprop-2-en-1-ones. *Der Pharma Chemica*. 2014, 6:35-44.
10. Dumontet C, Boumendjel A, Monneret G. Preparation of novel chalcone derivatives as anti-allergic agents. WO 2014162106, 2014.
11. Wang HM, Zhang L, Liu J, Yang ZL, Zhao HY, Yang Y, Shen D, Lu K, Fan ZC, Yao QW, Zhang YM, Teng YQ, Peng Y. Synthesis and anti-cancer activity evaluation of novel prenylated and geranylated chalcone natural products and their analogs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 92:439-448.
12. El-Sayed NS, El-Bendary ER, El-Ashry SM, El-Kerdawy MM. Synthesis and antitumor activity of new sulfonamide derivatives of thiadiazolo [3,2-*a*]pyrimidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46:3714-3720.
13. Bashir R, Ovais S, Yaseen S, Hamid H, Alam MS, Samim M, Singh S, Javed K. Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21:4301-4305.
14. Balderas-Renteria I, Gonzalez-Barranco P, Garcia A, Banik BK, Rivera G. Anticancer drug design using scaffolds of beta-lactams, sulfonamides, quinoline, quinoxaline and natural products. Drugs advances in clinical trials. *Current Medicinal Chemistry*, 2012, 19:4377-4398.
15. Gul HI, Kucukoglu K, Yamali C, Bilginer S, Yuca H, Ozturk I, Taslimi P, Gulcin I, Supuran CT. Synthesis of 4-(2-substitutedhydrazinyl)benzenesulfonamides and their carbonic anhydrase inhibitory effects. *Journal of Enzym Inhibition and Medicinal Chemistry*, In Press. DOI:10.3109/14756366.2015.1047359

16. Congiu C, Onnis V, Deplano A, Balboni G, Ceruso M, Supuran CT. Synthesis and carbonic anhydrase I, II, IX and XII inhibitory activity of sulfamates incorporating piperazinyl-ureido moieties. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2015, 23:5619-5625.
17. Chen L, Yang D, Pan Z, Lai L, Liu J, Fang B, Shi S. Synthesis and antimicrobial activity of the hybrid molecules between sulfonamides and active antimicrobial pleuromutilin derivative. *Chemical Biology and Drug Design*, 2015, 86:239-245.
18. Anusha S, Sinha A, Rajeev CPB, Chu TT, Mathai J, Ximei H, Fuchs JE, Shivananju NS, Bender A, Preiser PP, Rangappa KS, Basappa and Chandramohanadas R, Synthesis, characterization and in vitro evaluation of novel enantiomerically-pure sulphonamide antimalarials. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 2015, 13:10681-10690.
19. Zhu H, Yan X, Wang Z, Wang PQ, Hanyue Preparation of tetrahydronaphthalene or chroman containing pyrazoline sulfonamide derivatives as anticancer agents. CN 104211642A20141217, 2014
20. Rahman MU, Rathore A, Siddiqui AA, Parveen G, Yar MS. Synthesis and characterization of quinazoline derivatives: search for hybrid molecule as diuretic and antihypertensive agents. *Journal of Enzym Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2014, 29:733-743.
21. Firake SD, Bari SB. An insight into synthetic and docking approaches of benzenesulfonamide scaffold revealing COX-2 inhibitors. *Current Enzyme Inhibition*, 2015, 11:76-107.
22. Ceruso M, Carta F, Osman SM, Alothman Z, Monti SM, Supuran CT. Inhibition studies of bacterial, fungal and protozoan beta-class carbonic anhydrases with Schiff bases incorporating sulfonamide moieties. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2015, 23:4181-4187.

23. Sharma PK, Kumar S, Kumar P, Kaushik P, Sharma C, Kaushik D, Aneja KR. Synthesis of 1-(4-aminosulfonylphenyl)-3,5-diarylpyrazoline derivatives as potent antiinflammatory and antimicrobial agents. *Medicinal Chemistry Research*, 2012, 21:2945-2954.
24. Christiansen LB, Olesen PH, Hansen HC. Preparation of sulfonamide derivatives as antiobesity agents. WO 2005105712 A1 20051110, 2005.
25. Harikrishna N, Isloor AM, Ananda K, Obaid A, Fun HK. Synthesis, and antitubercular and antimicrobial activity of 1-(4-chlorophenyl)pyrazole containing 3,5-disubstituted pyrazoline derivatives. *New Journal of Chemistry*, DOI: 10.1039/c5nj02237a, 2015.
26. Reddy MVR, Billa VK, Pallela VR, Mallireddigari MR,R, Gabriel JL, ReddyEP. Design, synthesis, and biological evaluation of 1-(4-sulfamylphenyl) 3-trifluoromethyl-5-indolyl pyrazolines as cyclooxygenase-2 (COX-2) and lipoxygenase (LOX) inhibitor. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, 16:3907-3916.
27. Apotrosoaei M, Vasincu IM, Dragan M, Buron F, Routier S, Profire L. Design, synthesis and the biological evaluation of new 1,3-thiazolidine-4-ones based on the 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one scaffold. *Molecules*, 2014, 19:13824-13847.
28. Ozdemir A, Altintop MD, Kaplancikli ZA, Turan-Zitouni G, Ciftci GA, Yildirim SU. Synthesis of 1-acetyl-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of their anticancer activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2013, 28:1221-1227.
29. Dimmock JR, Kandepu NM, Hetherington M, Dimmock JR ,Kandepu MN, Hetherington M, Quail JW , Pugazhenthii U ,Sudom AM , Chamankhah

- M , Rose P , Pass E , Allen TM , Halleran S, Szydowski J, Mutus B, Tannous M , Manavathu EK , Myers TG, Clercq E and Balzarini J. Cytotoxic activities of Mannich bases of chalcones and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1998, 41:1014-1026.
30. Motohashi N, Wakabayashi H, Kurihara T, Fukushima H, Yamada T, Kawase M, Sohara Y, Tani S, Shirataki Y, Sakagami H, Satoh K, Nakashima H, Molnár A, Spengler G, Gyémánt N, Ugocsai K and Molnár J. Biological activity of barbados cherry (acerola fruits, fruit of malpighia emarginata dc.) extracts and fractions. *Anticancer Research* 2004, 24:3569-3570.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Dilan ÖZMEN ÖZGÜN
Doğum Tarihi:	18.01.1978
Doğum Yeri:	Diyadin
Medeni Hali:	Evli
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Tel:	04722159863
Faks:	
E-mail:	eczdilan@yahoo.com
Eğitim	
Lise:	Burhaniye Lisesi
Lisans:	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Yüksek Lisans:	Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Erzurum
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta derecede (YDS 55, 11 Mayıs 2014)
Almanca:	
Rusça:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
	13. Bölge Eczacı Odası, Türk Eczacılar Birliği
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Eczacılık Fakültesi Dekanlığı
Etik Alt Kurulu



Sayı : 93722986.12/384
Konu: Etik Alt Kurul Kararı

30/04/2015

Sayın Prof. Dr. Halise İnci GÜL

İlgi: 27.04.2015 tarih ve 413 sayılı dilekçeniz.

Fakültemiz Alt Etik Kurulunun 04.05.2015 tarihinde almış olduğu 05' nolu kararı ile "4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-substitüefenil-4,5-dihidro-1 H-pirazol-1-il]benzensülfonamid türevlerinin sentezi ve sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi" başlıklı Yüksek Lisans öğrenciniz Dilan Özmen ÖZGÜN ile beraber yürüteceğiniz çalışmanızın etik kurulumuz tarafından kabulüne karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Zühal GÜVENALP
Etik Alt Kurul Başkanı

TOPLANTI TARİHİ: 30.04.2015
TOPLANTI SAYISI: 4

Karar-05- Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Halise İnci GÜL'ün yürütücülüğünde Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında yürütülecek olan "4-[5-(2,4/3,4-dimetoksifenil)-3-substitüefenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il]benzensülfonamid türevlerinin sentezi ve sitotoksik aktivitelerinin incelenmesi" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 27.04.2015 tarih ve 413 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğunun mevcut oybirliği ile kabulüne karar verildi.