

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLAÇ ARAŞTIRMA VE GELİŞTİRME ANABİLİM DALI

**TİMOL ÇEKİRDEĞİ İÇEREN YENİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİPROLİFERATİF AKTİVİTE
ÖZELLİKLERİNİN *İN VİTRO* OLARAK İNCELENMESİ**

HAZIRLAYAN
Dicle ŞAHİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Senem AKKOÇ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TYL-2023-8986 nolu proje ile desteklenmektedir.**

Isparta - 2024

KABUL ve ONAY SAYFASI

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma,
aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .././....

Danışman : Doç. Dr. Senem Akkoç
Süleyman Demirel Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri
Ana Bilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Zülbiye Kökbudak
Erciyes Üniversitesi
Fen Fakültesi, Kimya Ana Bilim Dalı

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Firdevs Mert Sivri
Süleyman Demirel Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri
Ana Bilim Dalı

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mukadder İnci BAŞER KOLCU
Enstitü Müdürü

BEYAN

“Timol ekirdeği İçeren Yeni Bileşiklerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antiproliferatif Aktivite zelliklerinin *İn Vitro* Olarak İncelenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez nerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Hazırlayan

Dicle şAHİN

Danışman

Doç. Dr. Senem AKKOÇ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca olağanüstü samimiyeti, sabrı ve hoşgörüsüyle araştırma sürecimi olabildiğince kolaylaştıran, ihtiyaç duyduğum her an ulaşılabildiğim, bilgi ve tecrübesi ile bana yeni bakış açıları kazandıran, beni en iyi halime ulaşılabilmem için sonuna kadar zorlayan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Senem Akkoç'a içtenlikle teşekkür ederim.

Deneyleirim esnasında her türlü araç ve gerecini kullanmama büyük bir nezaketle izin veren, yardımseverliği ve hoşsohbetiyle laboratuvarında geçirdiğim uzun saatleri keyifli ve üretken kılan Dr. Öğr. Üyesi Firdevs Mert Sivri'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı TYL-2023-8986 nolu proje ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Son olarak, her şeyimi borçlu olduğum sevgili annem Halime Pektaş ve babam Raşit Şahin'e en içten teşekkürlerimi sunmak istiyorum. Bana aşıladıkları değerler hem hayat hem de henüz başında olduğum akademik yolculuğumu üzerine inşa ettiğim temel oldu. Yeteneklerime olan inançları zorlukların üstesinden gelmem için bana güç ve motivasyon sağladı. Sarsılmaz destekleri, güvenleri ve yaptıkları fedakârlıklar için minnettarım.

Dicle Şahin

ÖZET

Timol Çekirdeği İçeren Yeni Bileşiklerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antiproliferatif Aktivite Özelliklerinin *İn Vitro* Olarak İncelenmesi

Timol, geniş ölçekli biyolojik etkileri sebebiyle farmasötik ve medisinal kimyada çok sayıda araştırmanın konusu olmuş bir bitki sekonder metabolitidir. Bilim insanları timolün çeşitli türevlerini sentezleyerek pek çok hastalığa ve patojene karşı etkilerini incelemiş ve umut verici veriler elde etmiştir.

Bu tez, timol türevlerinin kanser hücrelerine karşı etkilerini anlamayı ve yeni antikanser ilaç adayları geliştirmeyi amaçlamıştır. 6-Aminotimolün çeşitli aldehitlerle kondenzasyonu ile on iki yeni imin bileşiği sentezlenmiş, spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiş, antiproliferatif etkileri HepG2 (karaciğer), DLD-1 (kolorektal), MCF-7 (meme) ve A549 (akciğer) kanser hücre hatlarına karşı değerlendirilmiştir. Sisplatin ve paklitaksel pozitif kontrol olarak kullanılmış ve bileşiklerin sağlıklı hücreler üzerindeki seçiciliği HEK-293T hücre hattı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın bulgularına göre, sentezlenen bileşiklerden 4f ((*E*)-4-(3-(tert-bütül)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol), HepG2 ve DLD-1 hücre hatlarında; 4k bileşiği ((*E*)-4-(antrasen-9-İlmetilenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) ise DLD-1 ve MCF-7 hücre hatlarında düşük IC₅₀ değerleri ve yüksek seçicilik ile en güçlü etkiyi sergilemiştir. Ayrıca 4i ((*E*)-4-(4-(dietilamino)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) de HepG2 hücre hattında etkili başka bir bileşik olmuştur.

4l ((*E*)-4-(3-bromo-5-klorobenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) bileşiği, MCF-7 hücre hattında önemli antikanser etki sergileyerek meme kanserine yönelik ilaç geliştirme çalışmalarında değerlendirilebilecek bir aday olduğunu göstermiştir.

4b ((*E*)-2-izopropil-5-metil-4-((5-metiltiyofen-2-il)metilenamino)fenol), 4d ((*E*)-4-(5-floro-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol), 4e ((*E*)-4-(2-hidroksi-5-metoksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) ve 4j ((*E*)-4-(5-bromo-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) bileşikleri ise kanser hücrelerine karşı makul sitotoksikite göstermesine rağmen, sağlıklı hücrelerde de beklenenin üstünde toksik etki yaratmıştır. Bu durum bu bileşiklerin daha fazla optimize edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Timol, İmin bileşikleri, Kanser, Sitotoksikite, Hücre kültürü

ABSTRACT

Synthesis, Characterization and In Vitro Investigation of Antiproliferative Activity of New Compounds Containing Thymol Nuclei

Thymol is a plant secondary metabolite that has been the subject of numerous investigations in pharmaceutical and medicinal chemistry due to its wide range of biological activities. Scientists have synthesized various derivatives of thymol, studied their effects against many diseases and pathogens, and obtained promising results.

This thesis aimed to understand the effects of thymol derivatives against cancer cells and to develop new anticancer drug candidates. Twelve new imine compounds were synthesized by the condensation of 6-aminothymol with various aldehydes, characterized by spectroscopic methods, and their antiproliferative effects were evaluated against HepG2 (liver), DLD-1 (colorectal), MCF-7 (breast), and A549 (lung) cancer cell lines. Cisplatin and paclitaxel were used as positive control, and the selectivity of the compounds on healthy cells was assessed using the HEK-293T cell line.

According to the findings, the synthesized compound 4f ((*E*)-4-(3-(tert-butyl)-2-hydroxybenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol) exhibited the strongest effect with low IC₅₀ values and high selectivity in HepG2 and DLD-1 cell lines. Similarly, compound 4k ((*E*)-4-(anthracen-9-ylmethyleneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol) showed potent effects in the DLD-1 and MCF-7 cell lines. Additionally, 4i ((*E*)-4-(4-(diethylamino)-2-hydroxybenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol) was another effective compound in the HepG2 cell line.

Compound 4l ((*E*)-4-(3-bromo-5-chlorobenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol) demonstrated significant anticancer activity in the MCF-7 cell line, indicating its potential as a candidate for drug development targeting breast cancer.

On the other hand, compounds 4b ((*E*)-2-isopropyl-5-methyl-4-((5-methylthiophen-2-yl)methyleneamino)phenol), 4d ((*E*)-4-(5-fluoro-2-hydroxybenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol), 4e ((*E*)-4-(2-hydroxy-5-methoxybenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol), and 4j ((*E*)-4-(5-bromo-2-hydroxybenzylideneamino)-2-isopropyl-5-methylphenol) displayed reasonable cytotoxicity against cancer cells but also caused higher than expected toxicity in healthy cells, suggesting the need for further optimization of these compounds.

Keywords: Thymol, Imine compounds, Cancer, Cytotoxicity, Cell Culture

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Timolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	1
1.2. Timolün Farmakolojik Özellikleri.....	1
1.3. Timolün Biyosentezi.....	3
1.4. Timolün Kimyasal Sentezi	4
1.5. Timol Türevlerinin Sentezi ve Biyoaktiviteleri.....	5
2. GEREÇ VE YÖNTEM	9
2.1. Bileşiklerin Sentezi.....	9
2.1.1. Başlangıç Maddesinin Sentezi.....	9
2.1.2. İmin Bileşiklerinin Sentezi	11
2.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu	13
2.3. Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları.....	13
3. BULGULAR.....	15
3.1. Sentezlenen Bileşikler	15
3.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu	17
3.2.1. (E)-4-((1H-pirol-2-il)metilenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4a).....	17
3.2.2. (E)-2-izopropil-5-metil-4-((5-metiltiyofen-2-il)metilenamino)fenol (4b)	20
3.2.3. (E)-4-(2-hidroksi-3-metilbenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4c)	23
3.2.4. (E)-4-(5-floro-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4d)	26
3.2.5. (E)-4-(2-hidroksi-5-metoksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4e).....	28

3.2.6. (E)-4-(3-tert-bütül)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4f)	31
3.2.7. (E)-4-([1,1'-bifenil]-4-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4g)	35
3.2.8. (E)-2-izopropil-4-(3-(4-izopropilfenil)-2-metilpropilidenamino)-5-metilfenol (4h)	38
3.2.9. (E)-4-(4-(dietilamino)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4i)	41
3.2.10. (E)-4-(5-bromo-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4j)	44
3.2.11. (E)-4-(antrasen-9-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4k)	47
3.2.12. (E)-4-(3-bromo-5-klorobenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4l)	50
3.3. Bileşiklerin Antiproliferatif Aktiviteleri	53
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	55
4.1. Bileşiklerin Sentezi	55
4.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu	58
4.3. Bileşiklerin Antiproliferatif Aktiviteleri	61
4.3.1. HepG2 Hücre Hattı	61
4.3.2. DLD-1 Hücre Hattı	62
4.3.3. MCF-7 Hücre Hattı	64
4.3.4. A549 Hücre Hattı	65
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	73

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Sentez aşamasında kullanılan kimyasallar.....	9
Tablo 2.2. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan malzemeler	14
Tablo 3.1. Sentezlenen bileşiklerin fiziksel özellikleri ve verimleri.....	15
Tablo 3.2. 4a bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	17
Tablo 3.3. 4a bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	18
Tablo 3.4. 4a bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	19
Tablo 3.5. 4b bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	20
Tablo 3.6. 4b bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	21
Tablo 3.7. 4b bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	22
Tablo 3.8. 4c bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	23
Tablo 3.9. 4c bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	24
Tablo 3.10. 4c bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	25
Tablo 3.11. 4d bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	26
Tablo 3.12. 4d bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	27
Tablo 3.13. 4e bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	28
Tablo 3.14. 4e bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	29
Tablo 3.15. 4e bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	30
Tablo 3.16. 4f bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları.....	31
Tablo 3.17. 4f bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları.....	33
Tablo 3.18. 4f bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları	34
Tablo 3.19. 4g bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	35
Tablo 3.20. 4g bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	36
Tablo 3.21. 4g bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	37
Tablo 3.22. 4h bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	38
Tablo 3.23. 4h bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları	39
Tablo 3.24. 4h bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları.....	40
Tablo 3.25. 4i bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	41
Tablo 3.26. 4i bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları.....	42
Tablo 3.27. 4i bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları	43
Tablo 3.28. 4j bileşiğinin ¹ H kimyasal kaymaları	44
Tablo 3.29. 4j bileşiğinin ¹³ C kimyasal kaymaları.....	45
Tablo 3.30. 4j bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları	46

Tablo 3.31. 4k bileşiminin ¹ H kimyasal kaymaları	47
Tablo 3.32. 4k bileşiminin ¹³ C kimyasal kaymaları	48
Tablo 3.33. 4k bileşiminin FTIR absorpsiyon frekansları.....	49
Tablo 3.34. 4l bileşiminin ¹ H kimyasal kaymaları	50
Tablo 3.35. 4l bileşiminin ¹³ C kimyasal kaymaları.....	51
Tablo 3.36. 4l bileşiminin FTIR absorpsiyon frekansları	52
Tablo 3.37. Bileşiklerin IC50 değerleri.....	53
Tablo 3.38. Bileşiklerin seçicilik indeksleri.....	53



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Timolün yapısı	1
Şekil 1.2. Timol kristalleri.....	1
Şekil 1.3. Timolün biyosentezi.....	4
Şekil 1.4. Timolün kimyasal sentezi	4
Şekil 1.5. Timolün <i>p</i> -simenden sentezi	5
Şekil 1.6. Timolün <i>m</i> -krezolden sentezi.....	5
Şekil 1.7. Timolün asetohidrazon türevlerinin sentezi.....	6
Şekil 1.8. Timolün halojenli türevlerinin sentezi	6
Şekil 1.9. Timol-sülfonamid konjugatlarının sentezi	7
Şekil 1.10. Timolün arilazo türevlerinin sentezi	7
Şekil 1.11. Timolün oksipropanolamin türevlerinin sentezi	7
Şekil 1.12. Timolün karbamat türevlerinin sentezi	8
Şekil 1.13. Timolün Schiff bazı türevlerinin sentezi.....	8
Şekil 2.1. Başlangıç maddesinin genel sentez şeması.....	11
Şekil 2.2. Bileşik 4a-4l'nin genel sentez şeması	11
Şekil 3.1. 4a bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	17
Şekil 3.2. 4a bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	18
Şekil 3.3. 4a bileşiğinin FTIR spektrumu	19
Şekil 3.4. 4b bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	20
Şekil 3.5. 4b bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	20
Şekil 3.6. 4b bileşiğinin FTIR spektrumu	21
Şekil 3.7. 4c bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	22
Şekil 3.8. 4c bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	23
Şekil 3.9. 4c bileşiğinin FTIR spektrumu	24
Şekil 3.10. 4d bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	26
Şekil 3.11. 4d bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	27
Şekil 3.12. 4e bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	28
Şekil 3.13. 4e bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	29
Şekil 3.14. 4e bileşiğinin FTIR spektrumu	30
Şekil 3.15. 4f bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	31
Şekil 3.16. 4f bileşiğinin ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	32
Şekil 3.17. 4f bileşiğinin ¹ H- ¹ H NOESY spektrumu	32

Şekil 3.18. 4f bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	33
Şekil 3.19. 4f bileşiğinin FTIR spektrumu	34
Şekil 3.20. 4g bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	35
Şekil 3.21. 4g bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	36
Şekil 3.22. 4g bileşiğinin FTIR spektrumu	37
Şekil 3.23. 4h bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	38
Şekil 3.24. 4h bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	39
Şekil 3.25. 4h bileşiğinin FTIR spektrumu	40
Şekil 3.26. 4i bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	41
Şekil 3.27. 4i bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	42
Şekil 3.28. 4i bileşiğinin FTIR spektrumu	43
Şekil 3.29. 4j bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	44
Şekil 3.30. 4j bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	45
Şekil 3.31. 4j bileşiğinin FTIR spektrumu	46
Şekil 3.32. 4k bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	47
Şekil 3.33. 4k bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	48
Şekil 3.34. 4k bileşiğinin FTIR spektrumu	49
Şekil 3.35. 4l bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	50
Şekil 3.36. 4l bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	51
Şekil 3.37. 4l bileşiğinin FTIR spektrumu	52
Şekil 4.1. Bileşik 2'nin oluşum mekanizması	56
Şekil 4.2. Bileşik 3'ün oluşum mekanizması	56
Şekil 4.3. İmin bileşiklerinin oluşum mekanizması	57
Şekil 4.4. 4f bileşiğinin proton tayinleri	59
Şekil 4.5. Protonlar arasındaki çapraz piklerin temsili	60
Şekil 4.6. Bileşiklerin HepG2 hücre hattındaki IC ₅₀ değerleri	61
Şekil 4.7. Bileşiklerin HepG2 hücre hattındaki seçiciliği	62
Şekil 4.8. Bileşiklerin DLD-1 hücre hattındaki IC ₅₀ değerleri	63
Şekil 4.9. Bileşiklerin DLD-1 hücre hattındaki seçiciliği	63
Şekil 4.10. Bileşiklerin MCF-7 hücre hattındaki IC ₅₀ değerleri	64
Şekil 4.11. Bileşiklerin MCF-7 hücre hattındaki seçiciliği	64
Şekil 4.12. Bileşiklerin A549 hücre hattındaki IC ₅₀ değerleri	65
Şekil 4.13. Bileşiklerin A549 hücre hattındaki seçiciliği	66

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
Δ	Isı
π	Pi
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
^{13}C NMR	Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
^1H NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
A549	İnsan akciğer kanser hücre hattı
ABTS	2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ATCC	American Type Culture Collection
atm	Atmosfer
CCl_4	Karbon tetraklorür
CDCl_3	Döteryumlu kloroform
CH_3CSNH_2	Tiyoasetamid
CHCl_3	Kloroform
COSY	Korelasyon spektroskopisi
Cu	Bakır
DLD-1	İnsan kolorektal kanser hücre hattı
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsülfoksit
DMSO-d_6	Döteryumlu dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ERK	DNA'ya sinyal iletilmesinde rol alan bir sinyal yolağı
Et_3N	Trietilamin
EtOH	Etil alkol
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi
g	Gram
h	Saat

H⁺	Proton
H₂O	Su
H₂S	Hidrojen sülfür
H₂SO₄	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit
HEK-293T	İnsan embriyonik böbrek hücre hattı
HepG2	İnsan karaciğer kanser hücre hattı
HNO₂	Nitröz asit
HNO₃	Nitrik asit
Hz	Herz
IC₅₀	Yarı-maksimum inhibitör konsantrasyonu
J	Kuplaj sabiti
K₂CO₃	Potasyum karbonat
MCF-7	İnsan meme kanser hücre hattı
MeOH	Metil alkol
Mg-Al-MCM-41	Magnezyum-alüminyum yüklü mezoporöz silika
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
N₂	Azot gazı
NaNO₂	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
NBS	N-bromosüksinimid
NCS	N-klorosüksinimid
NH₄OH	Amonyum hidroksit
NH₂NH₂	Hidrazin
NO⁺	Nitrozo iyonu
NOESY	Nükleer Overhauser Etki spektroskopisi
P13K/AKT	Hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol alan bir sinyal yolağı
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCl₅	Fosfor pentaklorür
pH	Hidrojen gücü

ppm

Milyonda bir birim

Zn

Çinko

Zn-Al-MCM-41

Çinko-alüminyum yüklü mezoporöz silika

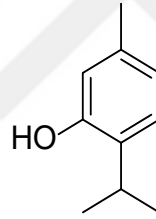


1. GİRİŞ

1.1. Timolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Timol, 2-izopropil-5-metilfenol olarak bilinen monoterpen bir fenol bileşiğidir. Bitki sekonder metabolitlerinden olan timol, çoğunlukla kekik yağından ekstraksiyon ile elde edilir [1]. Molekül formülü $C_{10}H_{14}O$ ve molekül ağırlığı 150.22 g/moldür. Yapısal olarak fenol halkasına hidroksil grubuna göre orto konumunda izopropil grubu ve meta konumunda metil grubu bağlıdır. Oda sıcaklığında kristal formda olup, erime noktası 49-51 °C, kaynama noktası 232 °C'dir [2].

Organik çözücülerde ve bazik pH'da yüksek çözünürlüğe sahipken, sudaki çözünürlüğü düşüktür [3]. Yapısındaki fenolik hidroksil grubu timole zayıf asidik özellik verir ve hidrojen bağı yapabilmesini, esterleşme [4], eterleşme [5] ve oksidasyon [6] gibi reaksiyonlara girebilmesini sağlar.



Şekil 1.1. Timolün kimyasal yapısı



Şekil 1.2. Timol kristalleri [7]

1.2. Timolün Farmakolojik Özellikleri

Timolün biyolojik aktiviteleri, kimyasal yapısındaki fenolik hidroksil grubuna atfedilmektedir [8]. Fenolik grupları içeren bileşikler, hem serbest radikalleri absorbe

ederek veya nötralize ederek, hem de endojen antioksidanları artırarak serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlar [9].

Timol, DPPH analizinde çok yüksek seviyede antioksidan aktivite sergilediği gibi [10], kan-beyin bariyerini geçebilmesi sayesinde Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı oksidatif stres belirteçlerini azaltarak ve motor fonksiyonları iyileştirmeye yardımcı olarak nöroprotektif etki göstermektedir [11, 12]. Ayrıca farelerde kadmiyum kaynaklı toksisitede hücrel antioksidan savunmayı güçlendirdiği ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir [13].

Timolün antioksidan özellikleri karaciğer üzerinde de koruyucu etki oluşturur. *Nigella sativa* L.'de bulunan timol, hepatoprotektif etkiler göstermiş ve timolün karaciğer hastalıklarının önlenmesindeki potansiyeli vurgulanmıştır [14].

Timolün kombine antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri terapötik potansiyeline önemli ölçüde katkıda bulunur. Örneğin, 5-florourasil ile indüklenen bağırsak mukoziti modellerinde timol, oksidatif stresi ve inflamatuvar tepkileri inhibe ederek koruyucu etkiler sergilemiştir [15].

Nanoformülasyon alanındaki gelişmeler timolün terapötik potansiyelini daha da artırmaktadır. Akasya sakızı-kitosan kopolimeri ile konjuge edilen timol, güçlü antioksidan ve antibakteriyal aktivite göstermiştir [16]. Ayrıca, yara pansuman malzemeleri için timol yüklü polimerik filmler geliştirilmiş ve timolün yara iyileşmesine de yardımcı olduğu gözlenmiştir [17].

Timol, çeşitli patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal özellikler sergiler. Bakteri ve mantarlara karşı etkinliği, onu enfeksiyonlara karşı değerli bir ajan haline getirmektedir. *Fusarium graminearum*'un hücre zarını bozarak lipid peroksidasyonuna ve ergosterol biyosentezine müdahale ettiği bulunmuş [18], propolis ile kombinasyonunun antifungal aktiviteyi önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir [19]. Ayrıca *Leishmania* parazitiine karşı da önemli aktivite gösterdiğini belirten çalışmalar bulunmaktadır [20].

Son yıllarda timolün kanser hücrelerine etkileri üzerine de çok sayıda araştırma yapılmış olup, çalışmalar timolün çeşitli mekanizmalar yoluyla antikanser etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

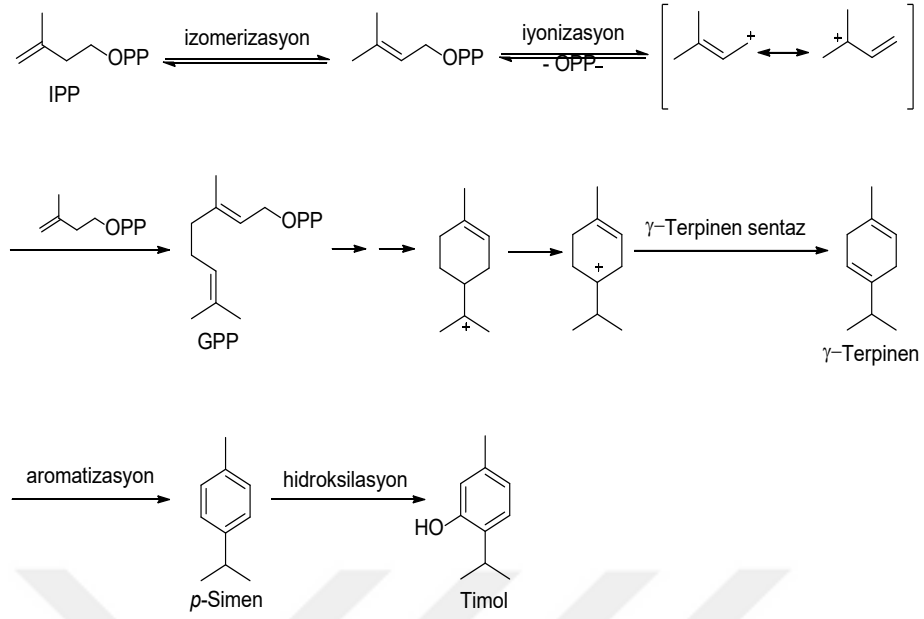
Prostat kanseri LNCaP hücrelerinde timol, doza bağılı büyüme önleyici etkiler sergilemiş ve kaspaz-3'ün aktivasyonu ve apoptoz ilişkili genlerin modülasyonu yoluyla apoptozu önemli ölçüde indüklemiştir [21]. Benzer şekilde, meme ve kolorektal kanser hücrelerinde, timolün reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek ve G0/G1 fazında hücre döngüsünün durmasına neden olarak apoptozu indüklediği gösterilmiştir [22].

Timol, kanser metastazında kritik süreçler olan kanser hücresi migrasyonunu ve invazyonunu engellemede de rol oynar. İnsan kolon kanseri hücrelerinde, timolün PI3K/AKT ve ERK yolaklarının aktivasyonunu aşağı doğru düzenleyerek migrasyon ve invazyonu inhibe ettiği bulunmuştur [23]. Ayrıca, timolün kolorektal kanser hücrelerinde Wnt/ β -Catenin yolağını baskılama yeteneği, kanserin ilerlemesini önlemedeki rolünü daha da desteklemektedir [24].

Timol, geleneksel kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma potansiyeli açısından da incelenmiştir. Timolün, yaygın bir kemoterapötik ilaç olan 5-florourasilin sitotoksitesini, hücre migrasyonunu azaltarak ve özofagus kanseri hücrelerinde apoptoz ve hücre döngüsü durmasını artırarak artırdığı gösterilmiştir [25]. Bu sinerjik etki, timolün tedavi sonuçlarını iyileştirmek için geleneksel kemoterapi ile birlikte kullanılabilceğini düşündürmektedir.

1.3. Timolün Biyosentezi

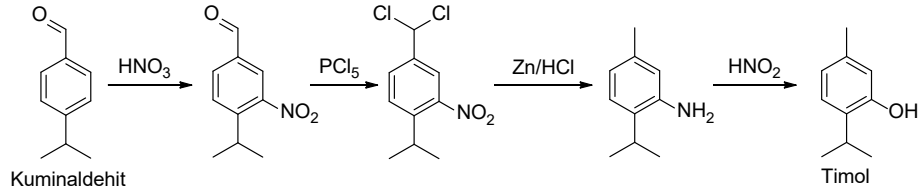
Timolün biyosentezi, izopentil pirofosfatın (IPP), tüm monoterpenlerin öncüsü olan geranil pirofosfata (GPP) dönüşümüyle başlar [26, 27]. Reaksiyon geranil pirofosfatın γ -terpinene, γ -terpinenin *p*-simene, son olarak da *p*-simenin timole dönüşümüyle tamamlanır.



Şekil 1.3. Timolün biyosentezi

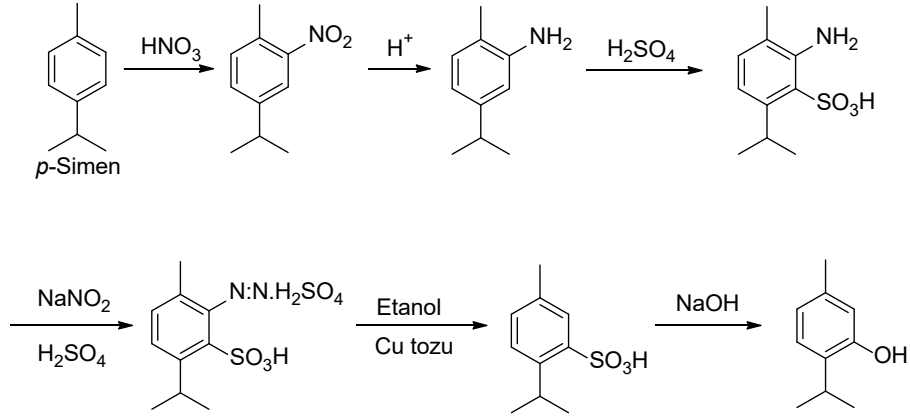
1.4. Timolün Kimyasal Sentezi

Timol, ilk kez İsveçli kimyager Oskar Widmann tarafından 1882’de kuminaldehitten yola çıkılarak sentezlenmiştir [28].



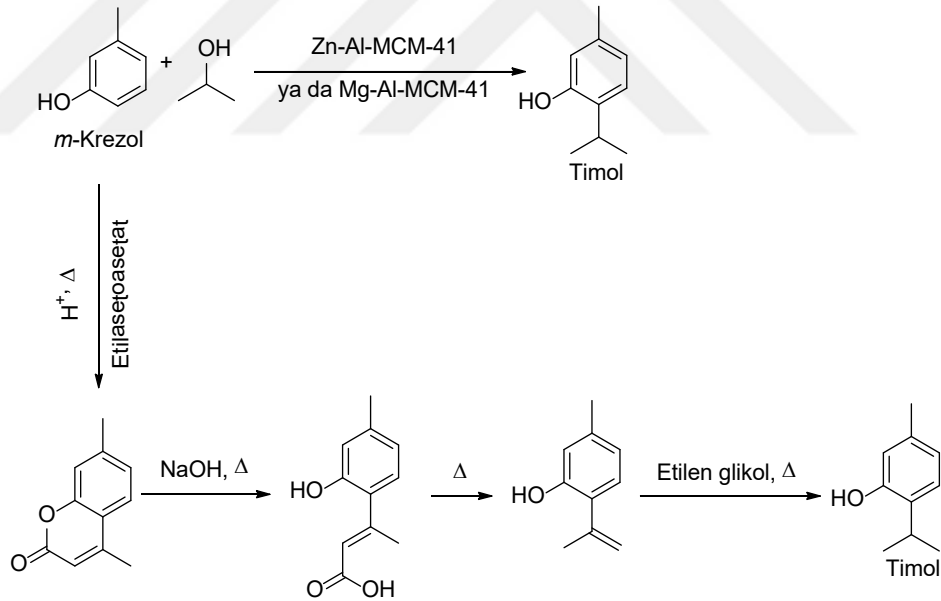
Şekil 1.4. Timolün kuminaldehitten sentezi

Widmann’dan sonra da timolün laboratuvar ortamında sentezi için pek çok yöntem geliştirilmiştir [29-36]. Bu yöntemlerin ilki, Phillips ve Gibbs tarafından 1920’de yayınlanmıştır ve *p*-simenin nitrolanmasıyla başlar [34].



Şekil 1.5. Timolün *p*-simenden sentezi

Timol sentezi için geliştirilen diğer yöntemler *m*-krezolün çeşitli yollarla alkillenmesini içerir [31, 35, 36]. Görece kolay ve yüksek verimli olduğundan günümüzde en çok tercih edilen yöntem olmuştur [27].

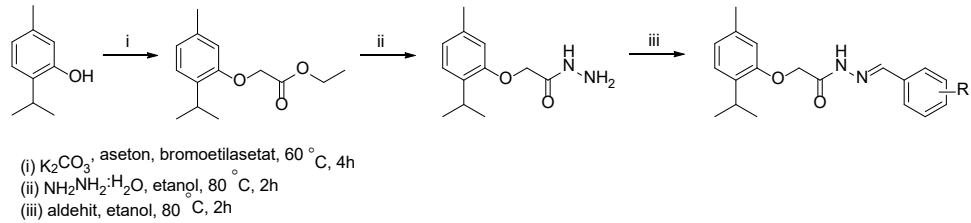


Şekil 1.6. Timolün *m*-krezolden sentezi

1.5. Timol Türevlerinin Sentezi ve Biyoaktiviteleri

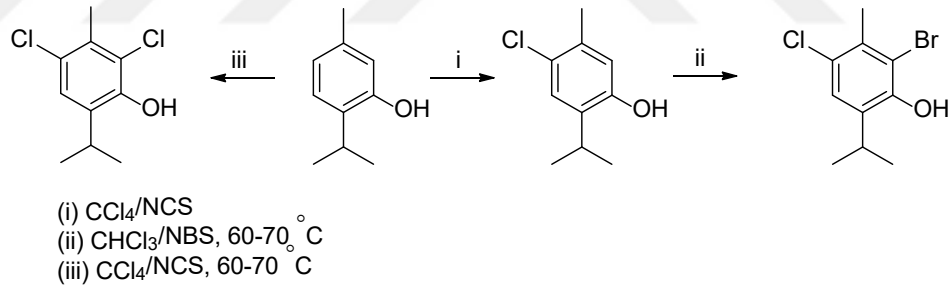
Timolün farmakolojik etkinliğini artırmak amacıyla araştırmacılar tarafından farklı yapılarda pek çok türev sentezlenmiş ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir.

Rajput ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, timol ve karvakrolün asetohidrazon bağlantılı yeni türevleri sentezlenmiştir. Türevlerin antibakteriyal ve antikanser özelliklerinin orijinal bileşiklerden daha güçlü olduğu gözlenmiş, moleküler doking simülasyonları da bazı temel enzimlere bağlanma afinitelerinin güçlülüğünü doğrulamıştır [37].



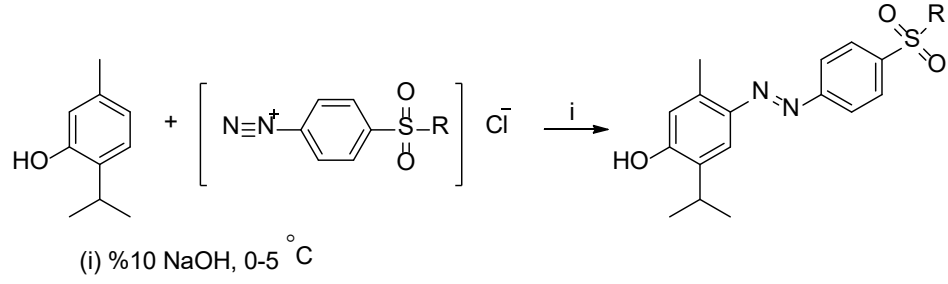
Şekil 1.7. Timolün asetohidrazon türevlerinin sentezi

Halojenasyon tipik olarak lipofilikliği ve membran geçirgenliğini artırarak antimikrobiyal aktiviteyi güçlendirir [38]. Kaur ve arkadaşları (2013), timolün bir dizi halojenli türevini sentezleyerek bakteriyal enzimlerle olan etkileşimlerini incelemiştir. Çalışma, timolün halojenli türevlerinin, -özellikle de klorlu türevlerin- önemli ölçüde daha iyi aktivite sergilediğini göstermiştir [39].



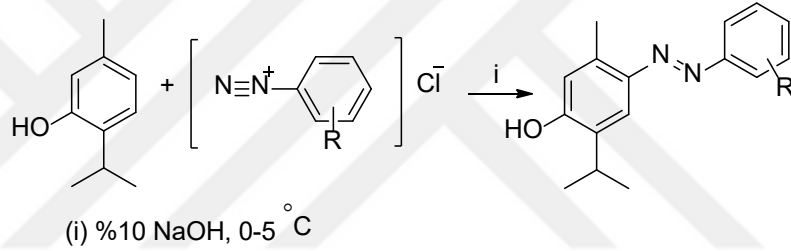
Şekil 1.8. Timolün halojenli türevlerinin sentezi

Swain ve arkadaşları (2017) tarafından bir antibiyotik grubu olan sülfonamidler ile timolün konjugatları hazırlanmış ve çok sayıda patojenik bakteriye karşı aktiviteleri araştırılmıştır. Konjugatlar güçlü antibakteriyal aktivite ve konak hücreler için minimum toksisite göstererek geleneksel antibiyotiklere alternatif olma potansiyellerini ortaya koymuştur [40].



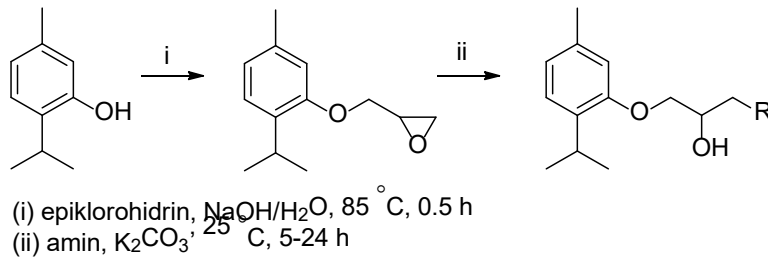
Şekil 1.9. Timol-sülfonamid konjugatlarının sentezi

Aynı araştırmacılar 2019 yılında bu kez metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterileri hedef almak üzere timolün arilazo türevlerini sentezlemiştir. Türevler, bu patojenlerde bulunan bazı yaygın direnç mekanizmalarının üstesinden gelerek önemli antibakteriyal aktivite göstermiştir [41].



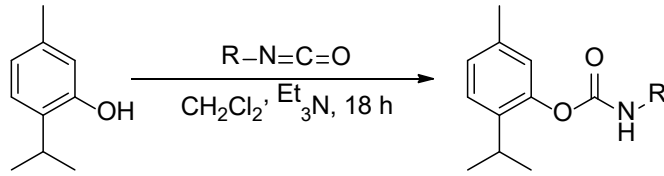
Şekil 1.10. Timolün arilazo türevlerinin sentezi

2018 yılında yayınlanan bir çalışmada, timolün oksipropanolamin türevleri sentezlenmiş; antidiyabetik, antikolinergik ve antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. Türevler, kolinesterazlara ve diğer metabolik enzimlere karşı güçlü inhibitör aktivite göstererek diyabet ve bakteriyal enfeksiyonlara karşı umut verici aday moleküller olmuştur [42].



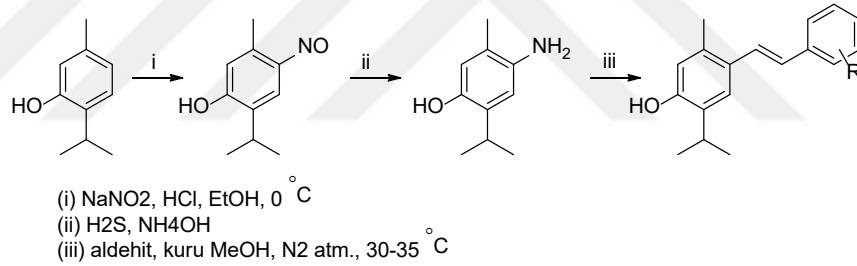
Şekil 1.11. Timolün oksipropanolamin türevlerinin sentezi

Karbamat süstitüeli yeni timol ve karvakrol türevlerinin sentezi ve kolinesteraz inhibitörü olarak potansiyellerini inceleyen bir çalışmada, türevlerin asetilkolinesteraz üzerinde önemli ölçüde inhibisyon gösterdiği raporlanmış ve moleküler doking çalışmaları ile bileşiklerin hedef enzimlere güçlü ve kararlı bir şekilde bağlandığı gösterilmiştir [43].



Şekil 1.12. Timolün karbamat türevlerinin sentezi

Beena ve arkadaşları tarafından 2013 yılında timol ve karvakrolün bir dizi Schiff bazı türevleri sentezlenmiş, DPPH ve ABTS metodlarıyla antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları, bazı türevlerin aktivitelerinin standart olarak kullanılan askorbik asitten daha güçlü olduğunu göstermiştir [44].



Şekil 1.13. Timolün Schiff bazı türevlerinin sentezi

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Bileşiklerin Sentezi

Başlangıç maddesi olarak kullanılan 4-amino-2-izopropil-5-metilfenolün ve hedef bileşiklerin sentezi literatüre göre yapılmıştır [44-46]. Kullanılan kimyasallar Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Sentez aşamasında kullanılan kimyasallar

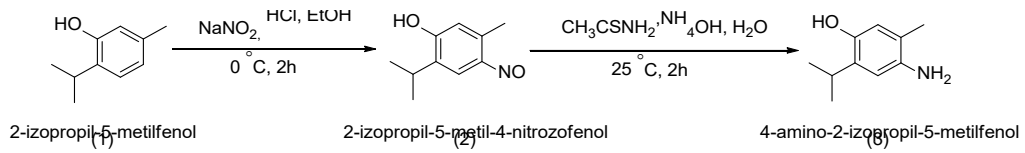
Kimyasalın Adı	CAS No	Temin Edilen Firma
Timol	89-83-8	Alfa Aesar
1 <i>H</i> -Pirrol-2-karbaldehit	1002-29-8	BLD Pharm
5-Metil-2-tiyofenkarbaldehit	13679-70-4	BLD Pharm
2-Hidroksi-3-metilbenzaldehit	824-42-0	BLD Pharm
5-Floro-2-hidroksibenzenal	347-54-6	BLD Pharm
2-Hidroksi-5-metoksibenzenal	672-13-9	BLD Pharm
3- <i>tert</i> -Bütil-2-hidroksibenzenal	24623-65-2	BLD Pharm
[1,1’-Bifenil]-4-karbaldehit	3218-36-8	BLD Pharm
3-(4-İzopropilfenil)-2-metilpropanal	103-95-7	BLD Pharm
4-(Dietilamino)-2-hidroksibenzenal	17754-90-4	BLD Pharm
5-Bromo-2-hidroksibenzenal	1761-61-1	Acros Organics

Tablo 2.1. Sentez aşamasında kullanılan kimyasallar (devam)

Antrasen-9-karbaldehit	642-31-9	BLD Pharm
3-Bromo-5- klorobenzaldehit	188813-05-0	BLD Pharm
Sodyum nitrit	7632-00-0	Merck
Tiyoasetamit	62-55-5	Merck
Su	-	-
Amonyum hidroksit (%30)	1336-21-6	Sigma Aldrich
Hidroklorik asit	7647-01-0	Merck
Etil alkol	64-17-5	Honeywell Research Chemicals
İzopropil alkol	67-63-0	Thermo Fisher Scientific
Bütül alkol	71-36-3	Tekkim
Dietil eter	60-29-7	İsolab
Diklormetan	75-09-2	Merck
Hekzan	110-54-3	İsolab
Kloroform	67-66-3	Sigma-Aldrich

2.1.1. Başlangıç Maddesinin Sentezi

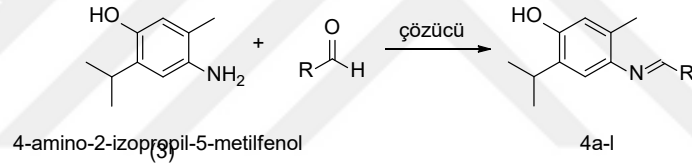
30 g, 0.2 mol 2-izopropil-5-metilfenol bileşiği (1) 150 mL etil alkolde çözüldü, çözeltiye yavaşça 150 mL derişik HCl eklendi. Oluşan karışım tuz-buz banyosunda 0 °C'ye soğutulduktan sonra 21.6 g 0.31 mol NaNO₂ eklenerek 2 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ürün (2) süzülerek soğuk su ile yıkandı ve önce açık havada, sonra ise vakumlu fırında kurutuldu. Kuruyan ürünün tamamı (32.7 g, 0.18 mol) 262 mL NH₄OH ve 458 mL H₂O'da çözüldü, oda sıcaklığında 15 dakika karıştıktan sonra süzüldü ve alta geçen sıvıya yavaşça 27.8 g, 0.37 mol tiyoasetamit eklenerek oda sıcaklığında 2 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Oluşan ürün (3) süzülerek soğuk su ile yıkandı ve önce açık havada, sonra ise vakumlu fırında kurutuldu.



Şekil 2.1. Başlangıç maddesinin genel sentez şeması

2.1.2. İmin Bileşiklerinin Sentezi

4-Amino-2-izopropil-5-metilfenol ile aldehitler etil alkol içerisinde 1:1 oranında reaksiyona sokuldu. Reaksiyonlar ince tabaka kromatografisi ile takip edilerek uygun sıcaklık tespit edildi. Hareketli faz olarak diklorometan ve etil alkol 90:10 oranında kullanıldı. Yağ formunda oluşan maddeler soğuk ortamda çöktürülerek elde edildi. Son ürünler gerekli görüldüğünde uygun bir çözücü ile yıkandıktan veya kristallendirildikten sonra önce açık havada daha sonra ise vakumlu fırında kurutuldu.



Şekil 2.2. Bileşik 4a-4l'nin genel sentez şeması

(E)-4-((1H-Pirol-2-il)metilenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4a) Sentezi:

0.7 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.403 g 1H-pirol-2-karbaldehit ilave edildi. Reaksiyon 48 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde saf bir şekilde elde edildiğinden ek bir işlem yapılmadı.

(E)-2-İzopropil-5-metil-4-((5-metiltiyofen-2-il)metilenamino)fenol (4b) Sentezi:

0.5 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 327 µL 5-metil-2-tiyofenkarbaldehit ilave edildi. Reaksiyon 48 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde saf bir şekilde elde edildiğinden ek bir işlem yapılmadı.

(E)-4-(2-Hidroksi-3-metilbenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4c) Sentezi:

0.3 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 221 µL 2-hidroksi-3-metilbenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 6 saat boyunca 60 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Elde edilen madde heksanda kristallendirilerek saflaştırıldı.

(E)-4-(5-Floro-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4d)

Sentezi: 0.3 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.254 g 5-floro-2-hidroksibenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 72 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde saf bir şekilde elde edildiğinden ek bir işlem yapılmadı.

(E)-4-(2-Hidroksi-5-metoksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol

(4e) Sentezi: 0.3 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 227 µL 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 72 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Elde edilen madde bütül alkol ile yıkandı.

(E)-4-(3-(tert-Bütül)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol

(4f) Sentezi: 0.4 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 415 µL 3-tert-bütül-2-hidroksibenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 22 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde saf bir şekilde elde edildiğinden ek bir işlem yapılmadı.

(E)-4-([1,1'-Bifenil]-4-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4g)

Sentezi: 0.5 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.55 g [1,1'-bifenil]-4-karbaldehit ilave edildi. Reaksiyon 48 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Elde edilen madde izopropil alkol ile yıkandı.

(E)-2-İzopropil-4-(3-(4-izopropilfenil)-2-metilpropilidenamino)-5-

metilfenol (4h) Sentezi: 0.5 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 610 µL 3-(4-izopropilfenil)-2-metilpropanal ilave edildi. Reaksiyon 24 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde yağmsı formda kristallendiğinden dietil eter ile soğuk ortamda çöktürüldü.

(E)-4-(4-(Dietilamino)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-

metilfenol (4i) Sentezi: 0.3 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.352 g 4-(dietilamino)-2-hidroksibenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 48 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde yağmsı formda kristallendiğinden dietil eter ile soğuk ortamda çöktürüldü.

(E)-4-(5-Bromo-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4j)

Sentezi: 0.5 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.609 g 5-bromo-2-hidroksibenzaldehit ilave edildi. Reaksiyon 72 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Madde saf bir şekilde elde edildiğinden ek bir işlem yapılmadı.

(E)-4-(Antrasen-9-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4k) Sentezi: 0.3 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.375 g antrasen-9-karbaldehit ilave edildi. Reaksiyon 48 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Elde edilen madde etil alkol ile yıkandı.

(E)-4-(3-Bromo-5-klorobenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4l) Sentezi: 0.4 g başlangıç maddesi etil alkolde çözüldükten sonra 0.532 g 3-bromo-5-klorobenzaldehyt ilave edildi. Reaksiyon 3 saat boyunca 80 °C sıcaklıkta devam ettikten sonra süzüldü. Elde edilen madde etil alkolde kristallendirilerek saflaştırıldı.

2.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu

Sentezlenen bileşiklerin moleküler yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve FTIR spektrumları alınarak doğrulanmıştır. NMR ölçümleri Bruker Ascend 400 cihazı ile, FTIR ölçümleri ise Perkin Elmer 400 ve Jasco FT/IR-4700 cihazları ile yapılmıştır. Ayrıca 4f bileşiği üzerinden COSY ve NOESY analizi yapılarak moleküllerin konfigürasyonları tespit edilmiştir.

2.3. Antiproliferatif Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin antiproliferatif aktivitelerinin incelenmesi, MTT hücre canlılık testi ile yapılmıştır [47]. Sarı renkli MTT çözeltisi, metabolik olarak aktif hücrelerin içine girdikten sonra mitokondriyal süksinat dehidrojenaz tarafından mor renkli formazana indirgenir. Ölçülen absorpsiyon değeri, numunedeki canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır [48].

Deneyde HepG2, DLD-1, MCF-7 ve A549 kanser hücre hatları ile HEK-293T sağlıklı insan hücre hattı kullanılmıştır. Kullanılan malzemelerin listesi Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan malzemelerin listesi

Kullanılan Malzeme	Temin Edilen Firma
HepG2 hücre hattı	ATCC
DLD-1 hücre hattı	ATCC
MCF-7 hücre hattı	ATCC
A549 hücre hattı	ATCC

Tablo 2.2. Hücre kültürü çalışmalarında kullanılan malzemelerin listesi (devam)

HEK-293T hücre hattı	ATCC
DMEM	Sigma-Aldrich
Fetal sığır serumu	Sigma-Aldrich
GlutaMAX	Thermo Fisher Scientific
MTT	BioFroxx
PBS	Biological Industries
DMSO	Sigma-Aldrich
96 kuyucuklu plaka	NEST Biotechnology

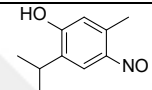
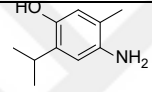
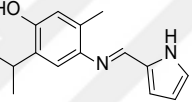
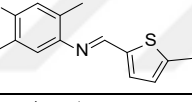
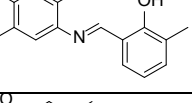
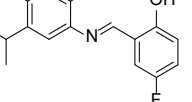
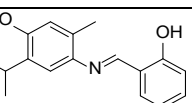
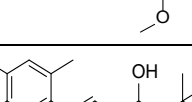
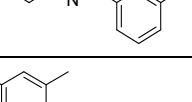
Hücreler %10 fetal sığır serumu ve %1 GlutaMAX ile desteklenmiş DMEM içinde kültür edildi. Hücre ekimi steril 96 kuyucuklu plakalara 5×10^3 hücre/kuyucuk yoğunluğunda yapıldı. Hücreler sentezlenen bileşiklerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan sisplatin [49] ve paklitakselin [50] 300, 150, 75, 37.5, 18.75 ve 9.375 μM konsantrasyonlarına 72 saat boyunca maruz bırakıldı. PBS'te 5 mg/mL oranında hazırlanan MTT çözeltisi kuyucuklara eklendi ve 2 saat daha inkübe edildi. Absorbans değerleri Biotek Epoch 2 plaka okuyucusunda 590 nm'de ölçüldü ve IC_{50} değerleri GraphPad Prism 10.1.0 programıyla [51] hesaplandı.

3. BULGULAR

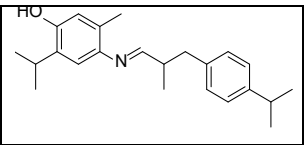
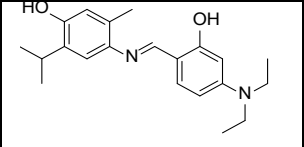
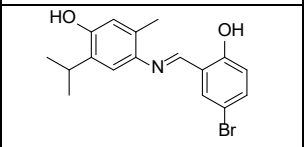
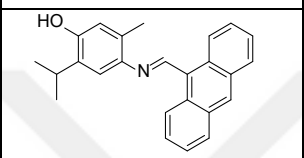
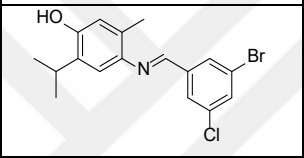
3.1. Sentezlenen Bileşikler

Sentezlenen bileşiklerin açık yapıları, fiziksel özellikleri ve verimleri Tablo 3.1’de verilmiştir. Erime noktası tayini için Electrothermal IA 9000 cihazı kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Sentezlenen bileşiklerin fiziksel özellikleri ve verimleri

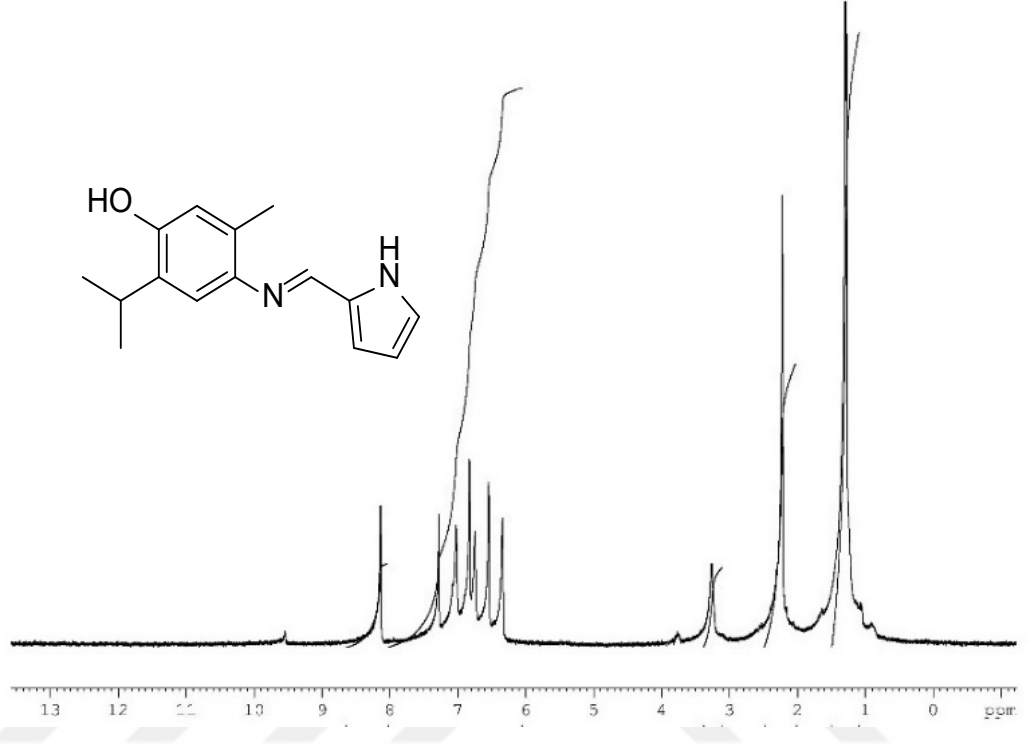
Bileşik	Yapısı	Mol kütlesi (g/mol)	Erime noktası (°C)	Rengi	% Verim
2		179.22	154-155	Kahve	91.36
3		165.23	180-181	Kahve	71.97
4a		242.32	153-156	Siyah	79.39
4b		273.39	133-135	Siyah	76.15
4c		283.36	138-140	Turuncu	43.82
4d		287.33	189-190	Turuncu	67.28
4e		299.36	157-160	Kırmızı	22.08
4f		325.44	115-117	Kahve	70.32
4g		329.43	188-191	Sarı	53.77

Tablo 3.1. Sentezlenen bileşiklerin fiziksel özellikleri ve verimleri (devam)

4h		337.50	178-180	Kahve	30.27
4i		340.46	154-156	Kahve	19.41
4j		348.23	199-201	Turuncu	62.06
4k		353.46	213	Hardal	64.18
4l		366.68	133-138	Kahve	83.34

3.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu

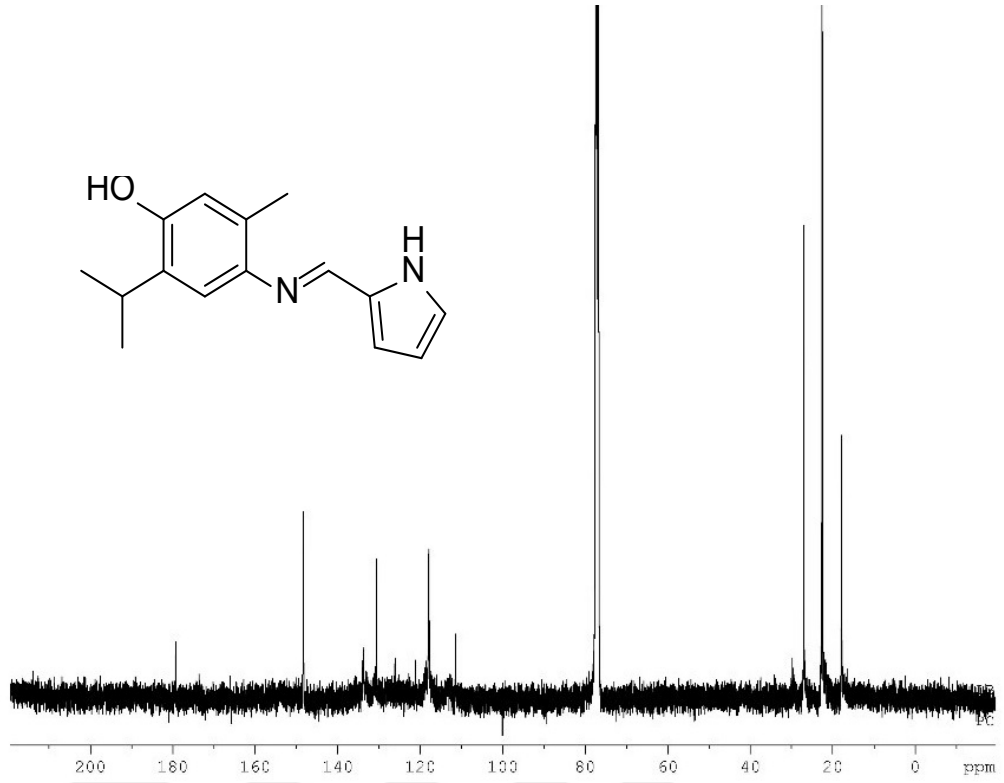
3.2.1. (E)-4-((1H-pirol-2-il)metilenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4a)



Şekil 3.1. 4a bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl₃, 298 K)

Tablo 3.2. 4a bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

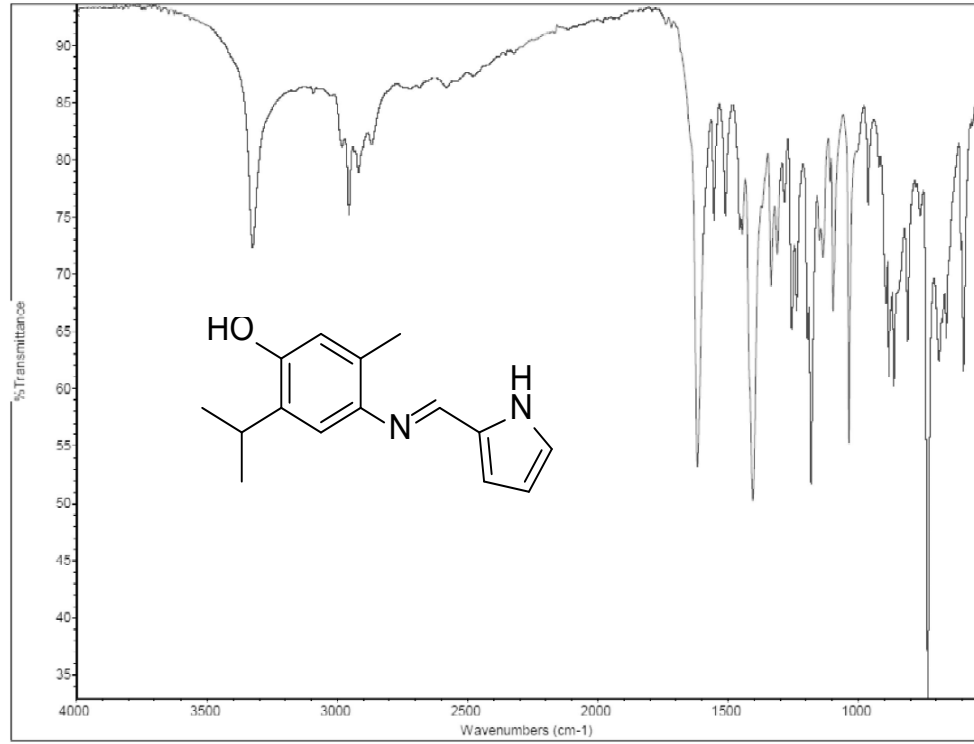
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.27 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 6H)
CH ₃	2.22 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.23 (septet, 1H)
Ar-H, N-H, O-H	6.34-8.34 (m, 7H)
N=CH	9.54 (s, 1H)



Şekil 3.2. 4a bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl_3 , 298 K)

Tablo 3.3. 4a bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	17.81
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.50
CCH_3	26.93
Ar-C	111.39, 117.86, 121.08, 126.06, 130.59, 133.80, 148.27
N=CH	179.28

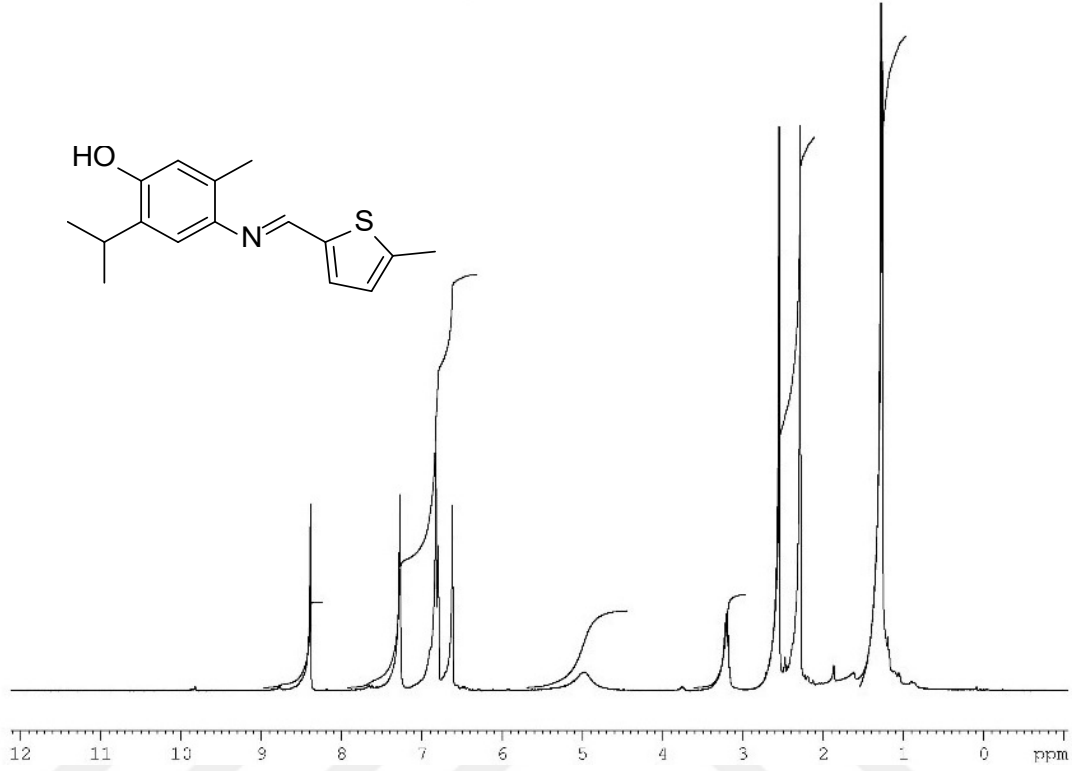


Şekil 3.3. 4a bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.4. 4a bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H, N-H	3325.0
C-H	2918.3, 2868.7
C=N	1616.4
C=C	1553, 1508,8
C-H	1444.2, 1404.1
C-N	1310.1
C-O	1281.7

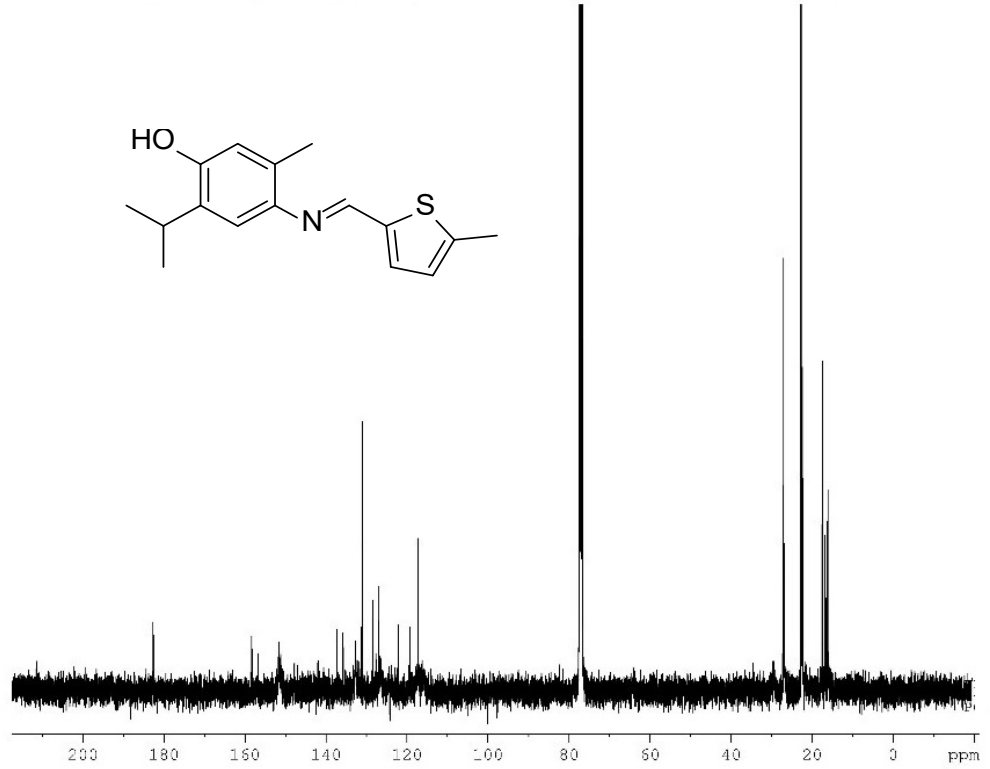
3.2.2. (E)-2-izopropil-5-metil-4-((5-metiltiyofen-2-il)metilenamino)fenol
(4b)



Şekil 3.4. 4b bileşğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl₃, 298 K)

Tablo 3.5. 4b bileşğinin ¹H kimyasal kaymaları

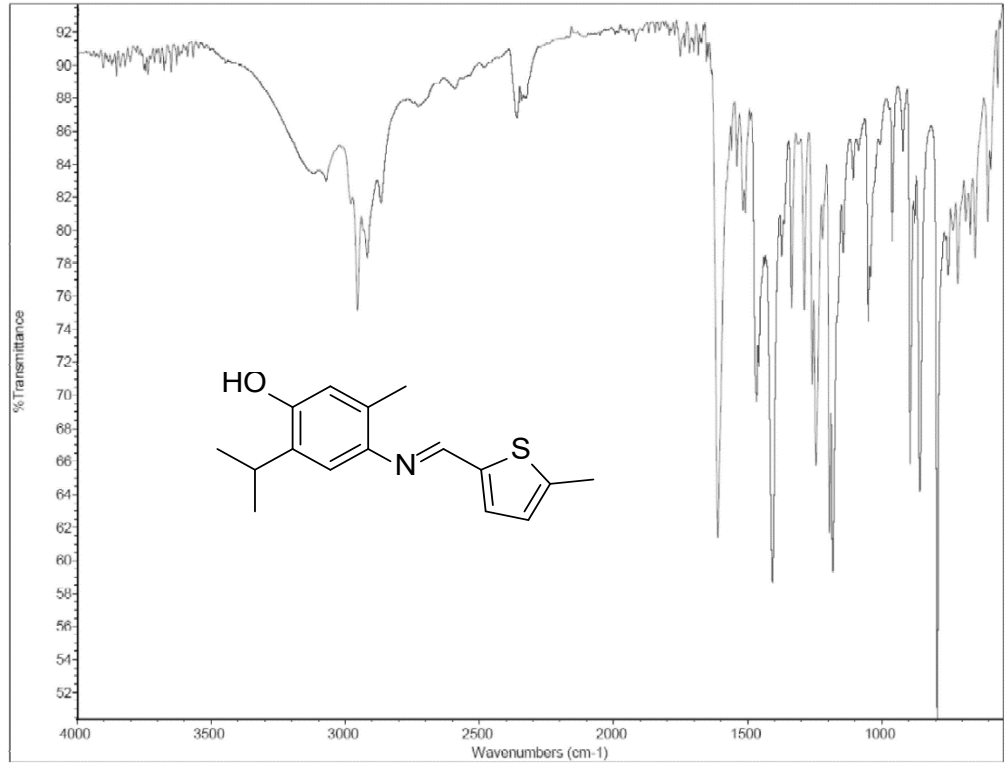
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.27 (d, <i>J</i> : 4Hz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.55 (s, 3H)
CH ₃	2.71 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.20 (septet, 1H)
O-H	4.99 (s, 1H)
Ar-H	6.62-7.66 (m, 4H)
N=CH	8.58 (s, 1H)



Şekil 3.5. 4b bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl_3 , 298 K)

Tablo 3.6. 4b bileşiğini ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	16.26, 17.39
$\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	22.32
CCH_3	22.65
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.17
Ar-C	117.29, 119.22, 122.11, 126.62, 127.64, 131.03, 132.65, 135.77, 137.27, 151.68, 158.32
$\text{N}=\text{CH}$	182.65



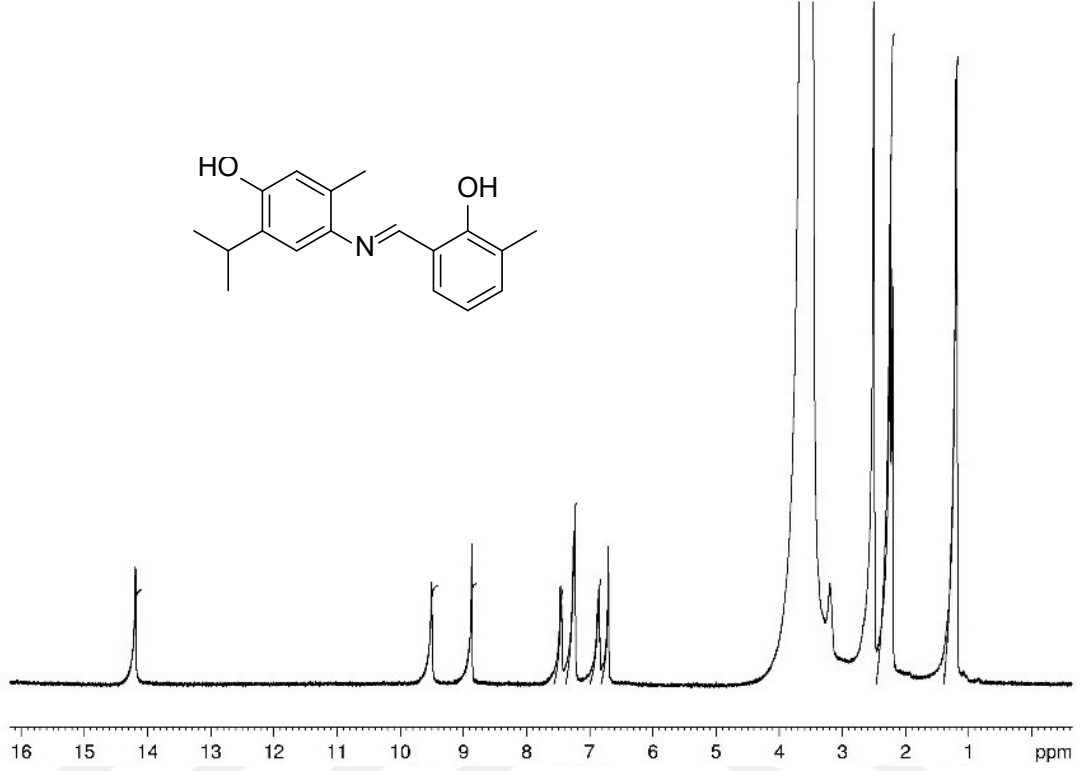
Şekil 3.6. 4b bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.7. 4b bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3445.7
C-H	2953.9, 2917.4
C=N	1610.0
C=C	1539.2, 1507.2
C-H	1465.9, 1406.5
C-O	1287.8
C-S	650.94

3.2.3. (E)-4-(2-hidroksi-3-metilbenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol

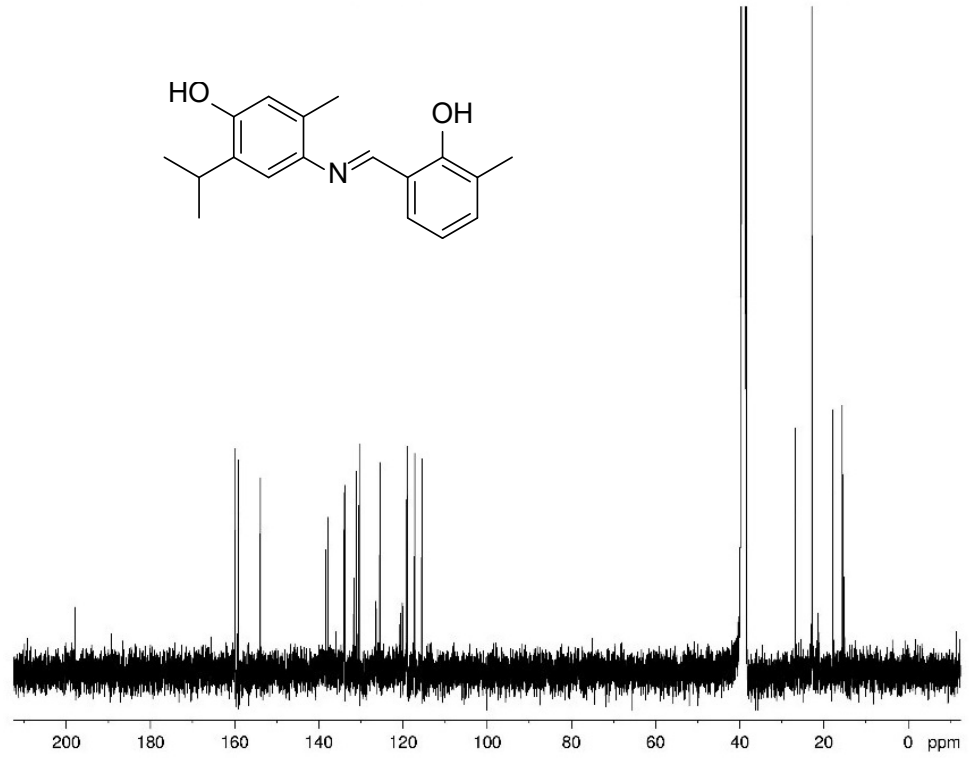
(4c)



Şekil 3.7. 4c bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.8. 4c bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

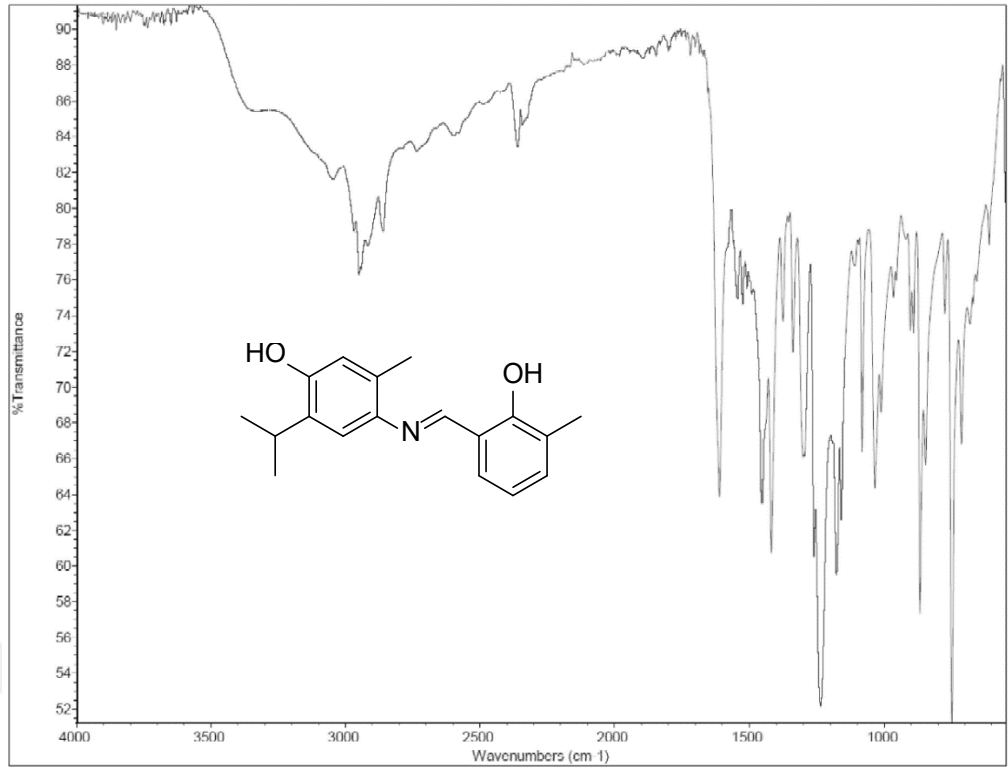
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.18 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃ , C ₆ H ₃ (CH ₃) ₃	2.24, 2.45 (s, 6H)
CH(CH ₃) ₂	3.18 (septet, 1H)
Ar-H	6.71-7.46 (m, 5H)
N=CH	8.87 (s, 1H)
O-H	9.50, 14.28 (s, 2H)



Şekil 3.8. 4c bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.9. 4c bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	15.59
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{C}_6\text{H}_3(\text{CH}_3)_3$	17.85, 21.38
$\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	22.84
CCH_3	26.78
Ar-C	115.51, 118.95, 119.08, 120.70, 125.51, 126.42, 130.42, 131.08, 133.87, 137.81, 138.37, 153.92, 159.85
$\text{N}=\text{CH}$	197.93



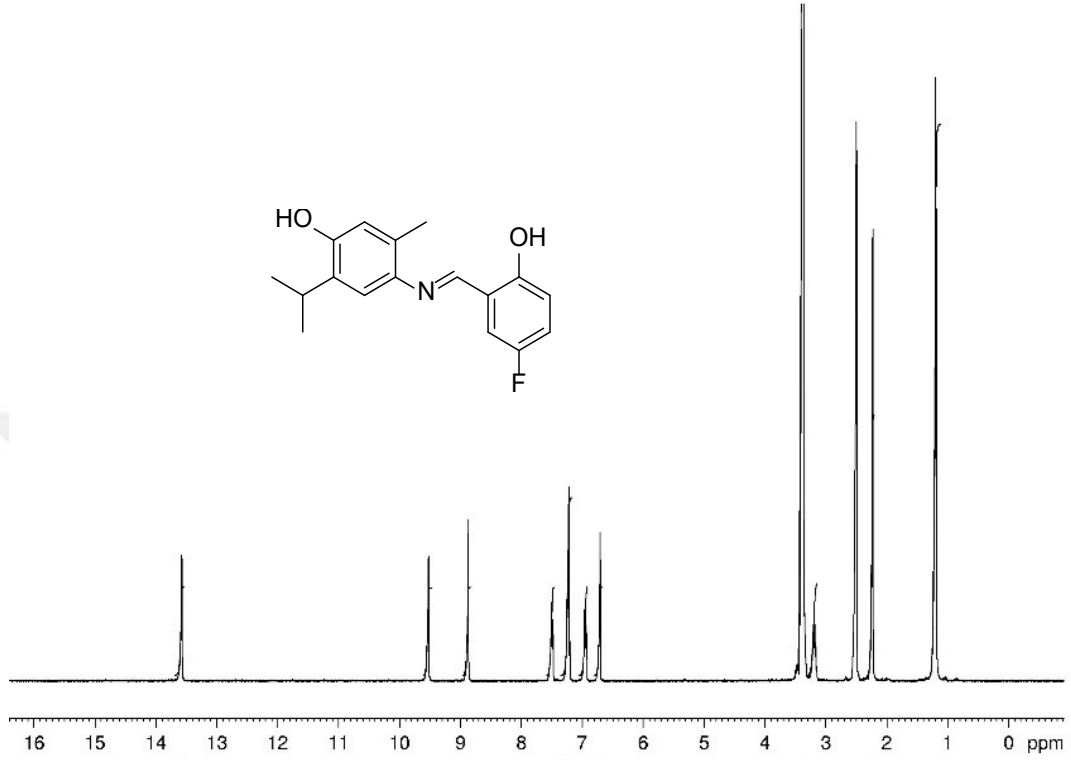
Şekil 3.9. 4c bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.10. 4c bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3357.1
C-H	2948.9, 2859.3
C=N	1608.9
C=C	1522.4
C-H	1452.2, 1419.0
C-O	1300.9, 1235.6

3.2.4. (E)-4-(5-floro-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol

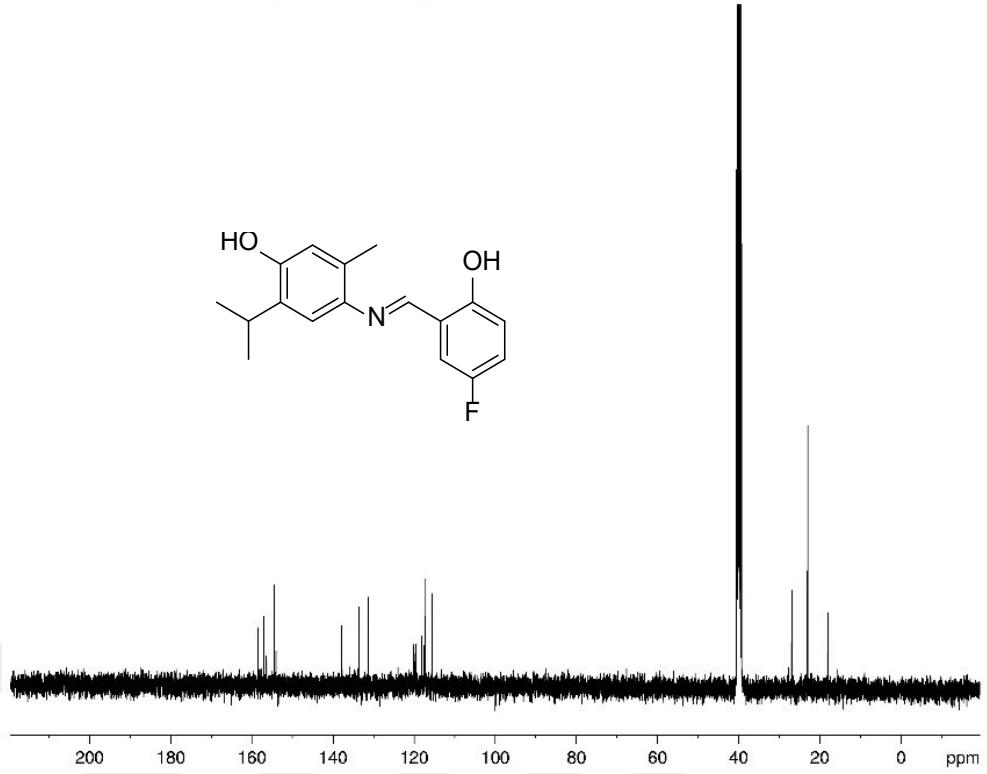
(4d)



Şekil 3.10. 4d bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.11. 4d bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.20 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.23 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.20 (septet, <i>J</i> : 8 Hz, 1H)
Ar-H	6.71-7.51 (m, 5H)
N=CH	8.87 (s, 1H)
O-H	9.53, 13,58 (s, 2H)

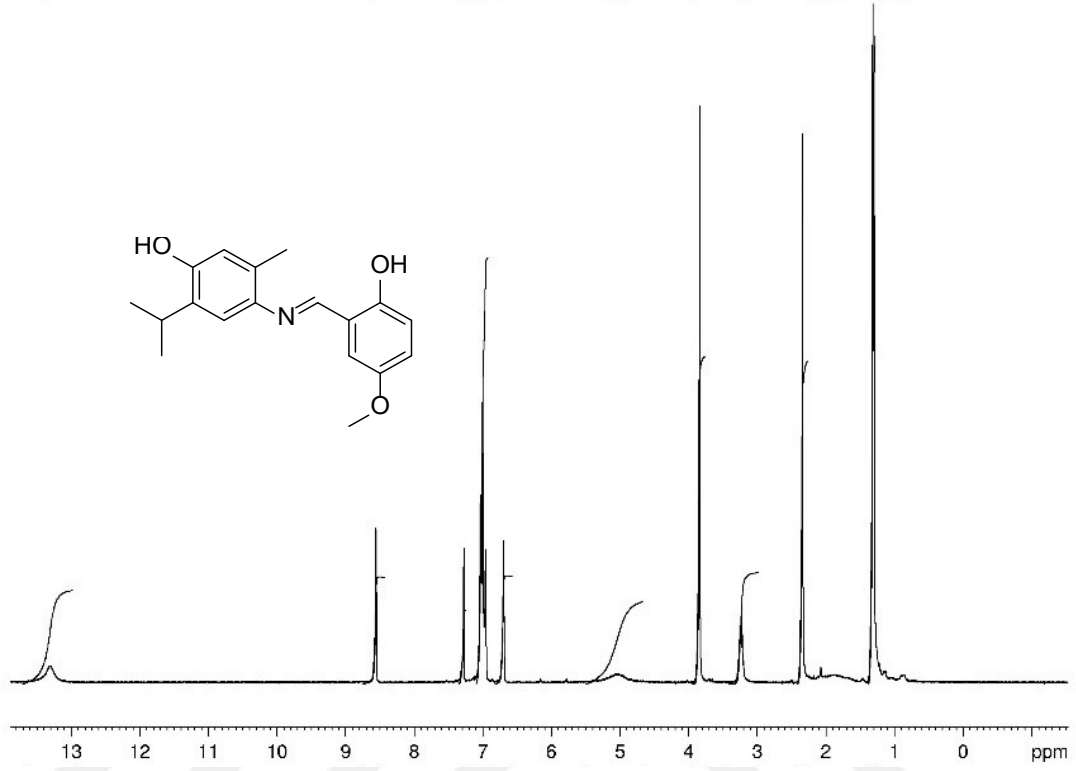


Şekil 3.11. 4d bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.12. 4d bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CCH_3	18.07
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.96, 26.93
Ar-C	115.58, 117.26, 118.16, 119.56, 120.25, 131.41, 133.71, 137.96, 154.06, 154.55, 157.13, 158.59
$\text{N}=\text{CH}$	158.59

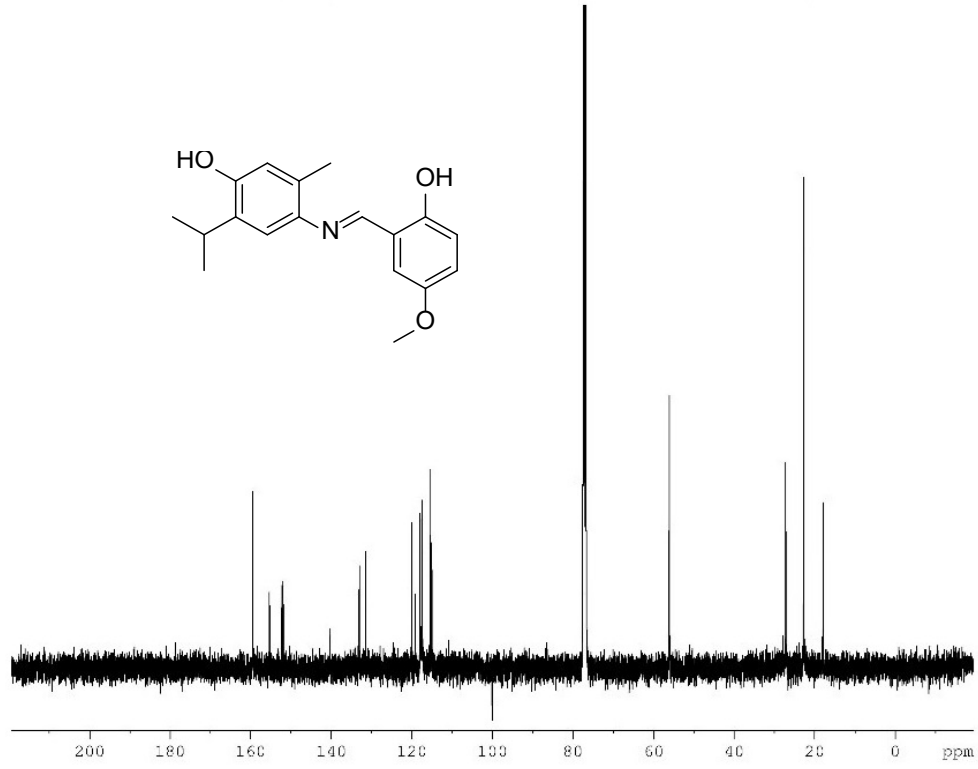
3.2.5. (*E*)-4-(2-hidroksi-5-metoksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4e)



Şekil 3.12. 4e bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl₃, 298 K)

Tablo 3.13. 4e bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

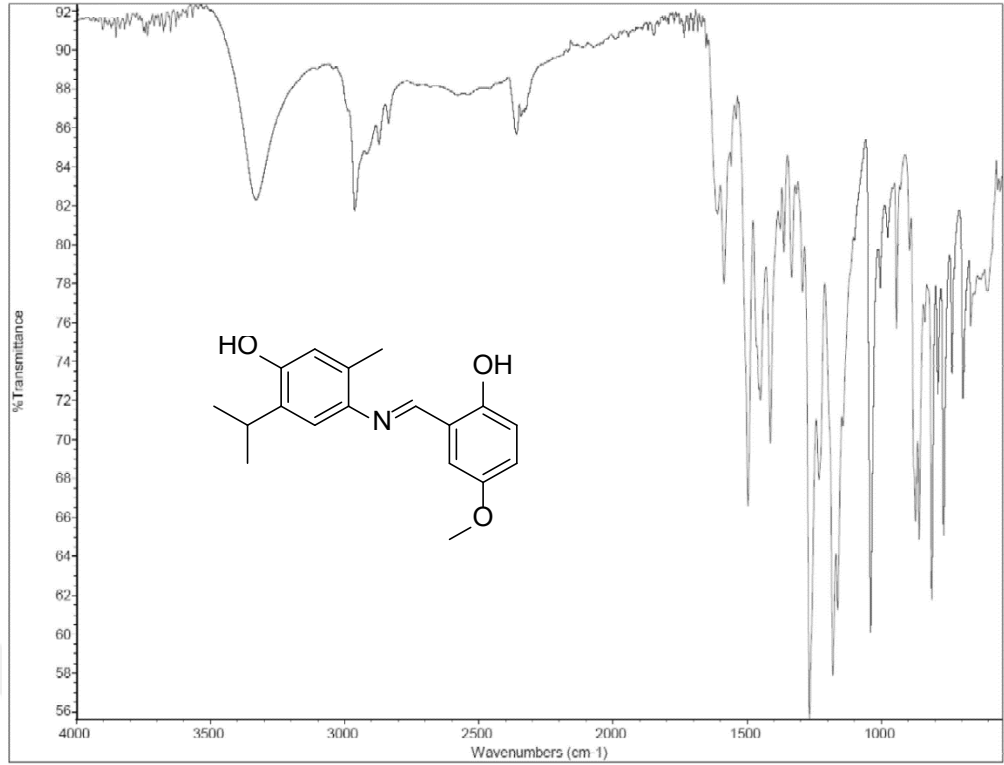
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.30 (d, <i>J</i> : 4 MHz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.34 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.23 (septet, 1H)
OCH ₃	3.84 (s, 3H)
OH	4.90 (s, 1H)
Ar-H	6.70-7.28 (m, 5H)
N=CH	8.56 (s, 1H)
O-H	13.30 (s, 1H)



Şekil 3.13. 4e bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl_3 , 298 K)

Tablo 3.14. 4e bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	17.80, 22.65, 27.11
OCH_3	55.99
Ar-C	115.00, 115.31, 117.41, 117.89, 119.15, 119.91, 131.42, 133.00, 140.38, 151.90, 152.22, 155.32
$\text{N}=\text{CH}$	159.41

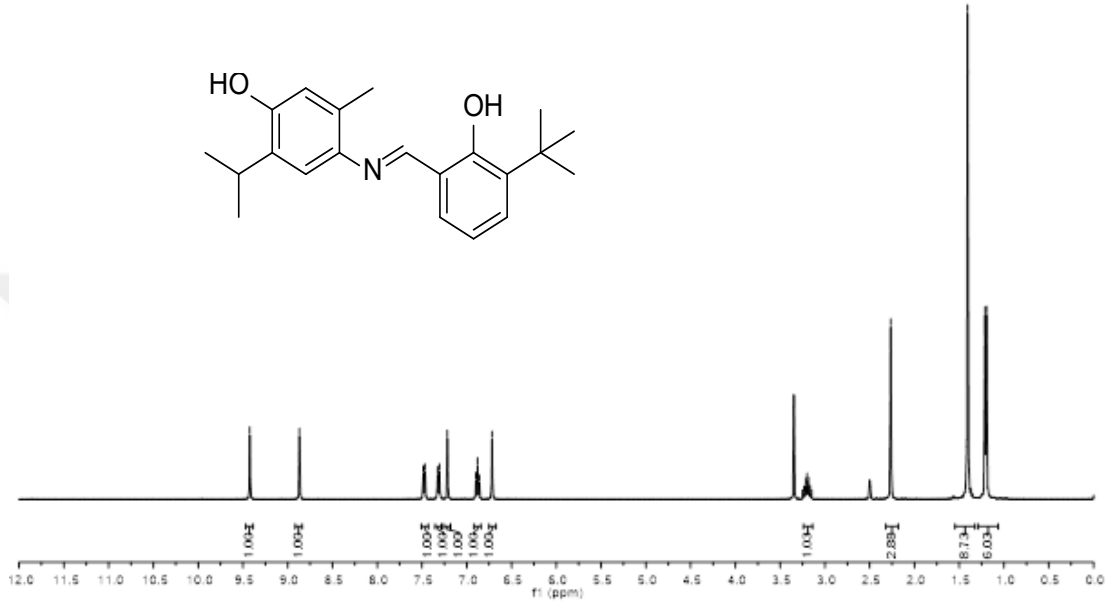


Şekil 3.14. 4e bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.15. 4e bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3329.8
C-H	2961.8, 2871.7
C=N	1613.0
C=C	1584.9
C-H	1495.8, 1449.4
C-O	1266.5, 1231.5

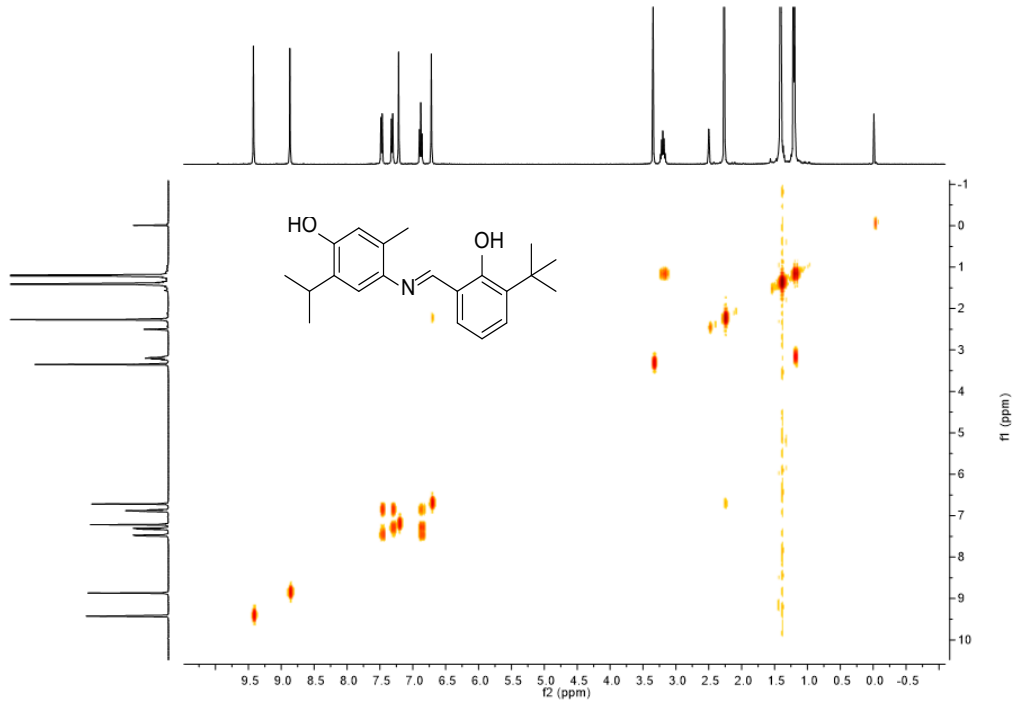
3.2.6. (*E*)-4-(3-(*tert*-bütil)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4f)



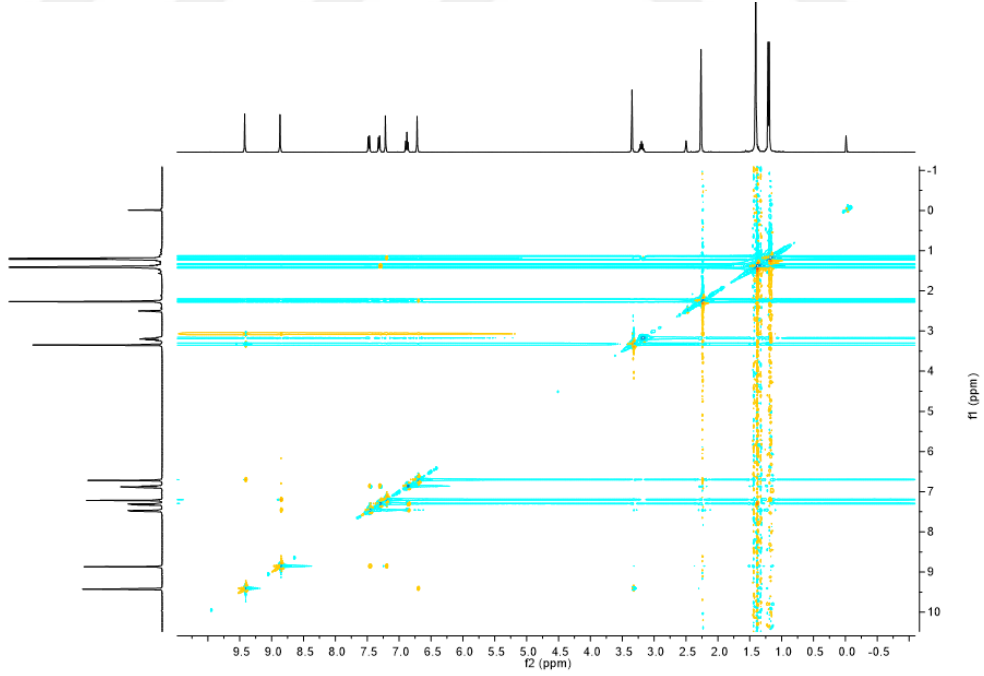
Şekil 3.15. 4f bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.16. 4f bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

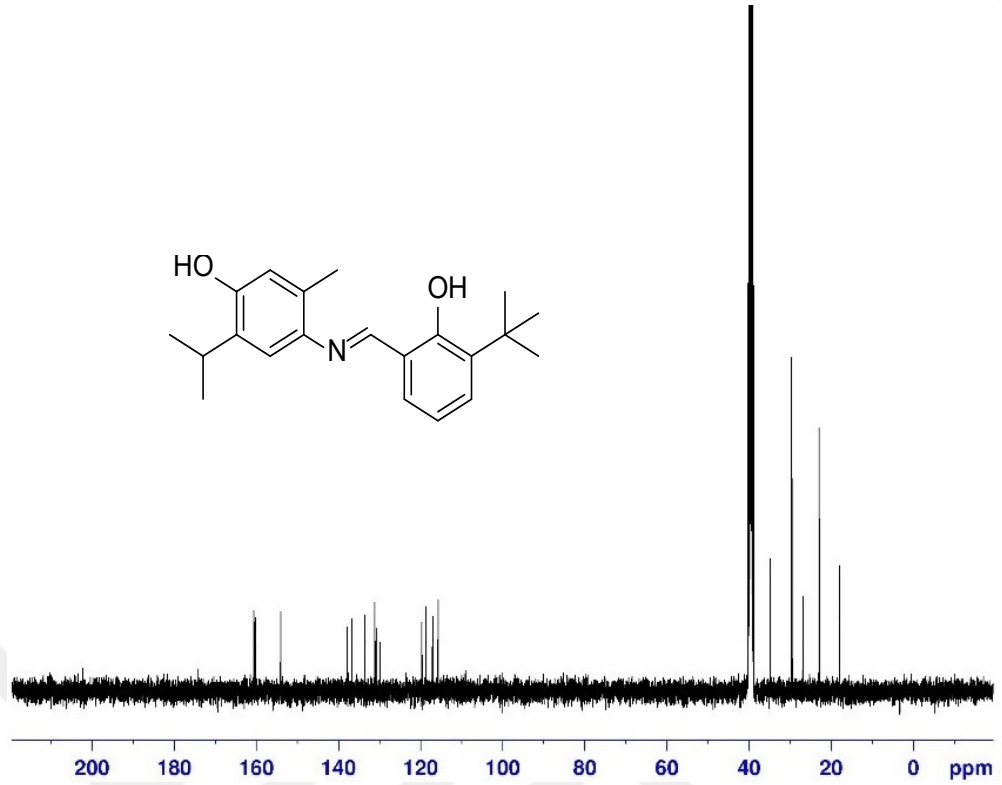
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.20 (d, <i>J</i> : 6.9 Hz, 6H)
C(CH ₃) ₃	1.41 (s, 9H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.27 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.20 (dp, <i>J</i> = 13.7, 6.8 Hz, 1H)
Ar-H	6.72-7.48 (m, 5H)
N=CH	8.87 (s, 1H)
O-H	9.42 (s, 2H)



Şekil 3.16. 4f bileşiğinin ^1H - ^1H COSY spektrumu



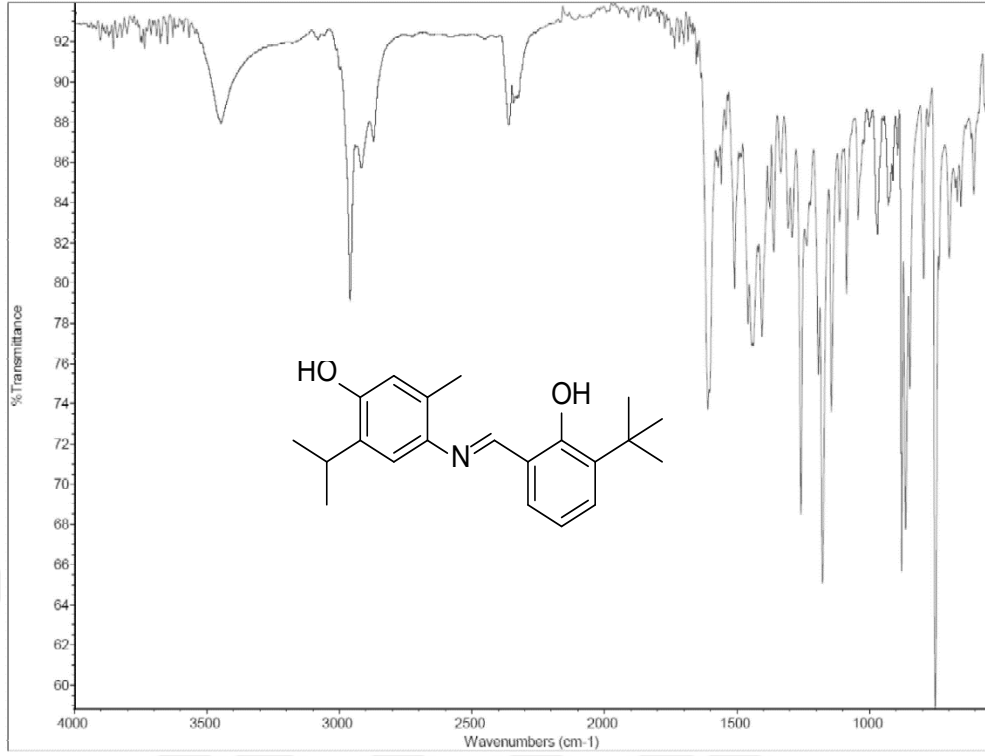
Şekil 3.17. 4f bileşiğinin ^1H - ^1H NOESY spektrumu



Şekil 3.18. 4f bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.17. 4f bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	17.98
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.92, 26.86, 29.44
$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	34.86
Ar-C	115.73, 117.10, 118.69, 119.72, 129.81, 130.87, 131.15, 133.62, 136.77, 137.88, 154.06, 160.15
N=CH	160.61

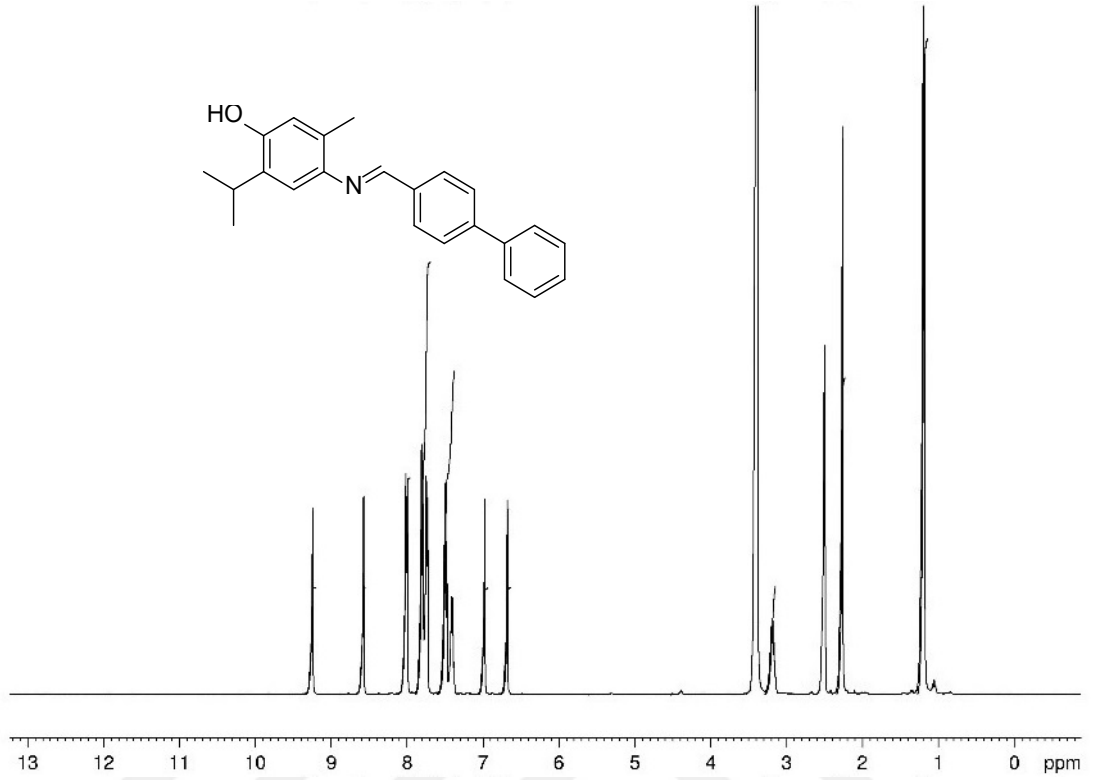


Şekil 3.19. 4f bileşiminin FTIR spektrumu

Tablo 3.18. 4f bileşiminin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3446.4
C-H	2958.3, 2915.9
C=N	1608.8
C=C	1558.5, 1507.7
C-H	1442.3, 1404.6
C-O	1257.3, 1176.1

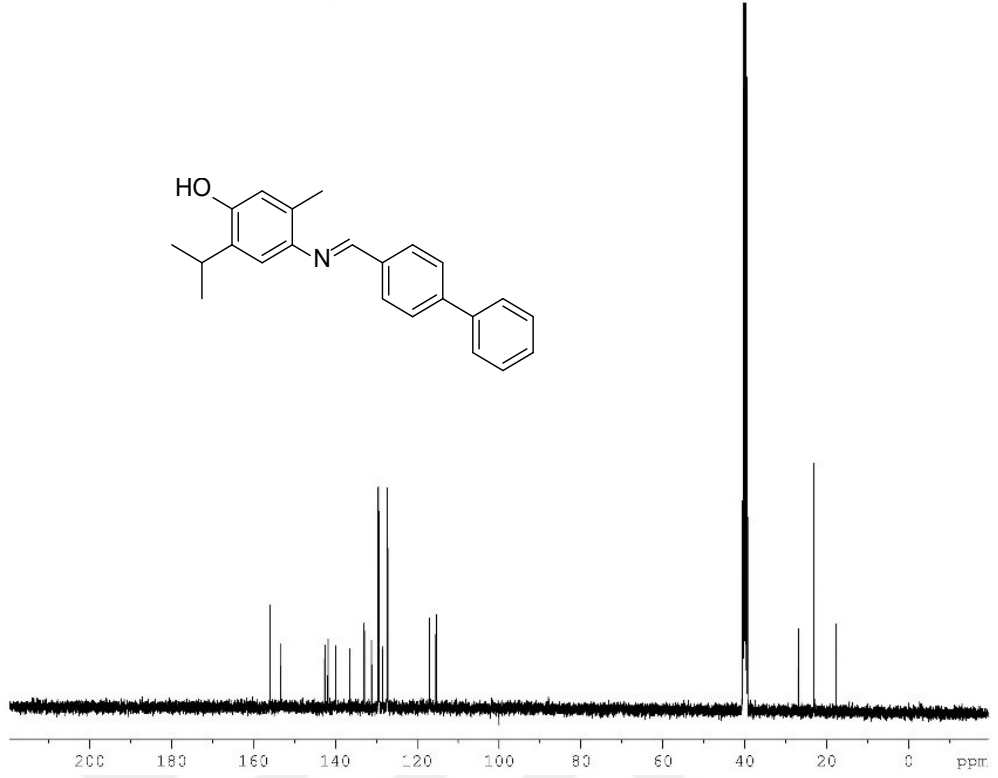
3.2.7. (E)-4-([1,1'-bifenil]-4-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4g)



Şekil 3.20. 4g bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.19. 4g bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

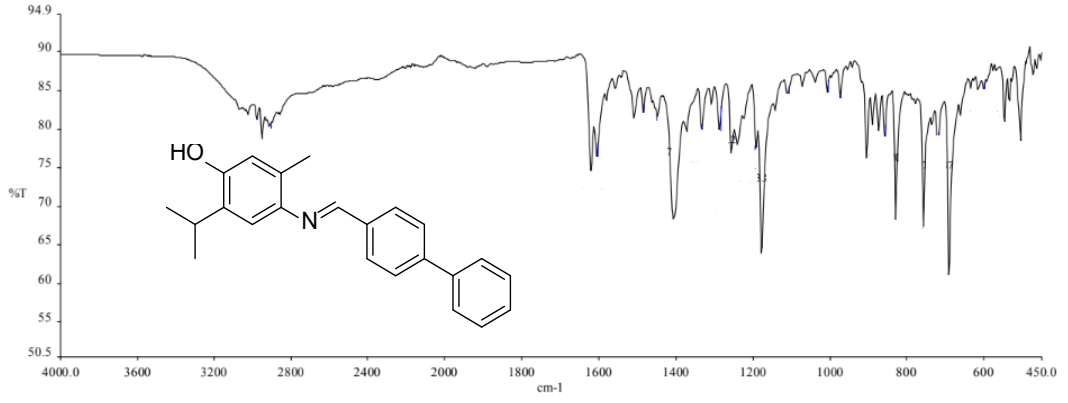
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.21 (d, <i>J</i> : 12 Hz, 6H)
CH ₃	2.26 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.18 (septet, <i>J</i> : 12 Hz, 1H)
Ar-H	6.69-8.02 (m, 11H)
N=CH	8.58 (s, 1H)
O-H	9.25 (s, 1H, OH)



Şekil 3.21. 4g bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.20. 4g bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	17.45, 22.69
CCH_3	27.08
Ar-C	115.54, 117.19, 127.21, 127.44, 128.87, 129.04, 131.03, 132.68, 140.43, 143.63, 151.27
$\text{N}=\text{CH}$	157.15

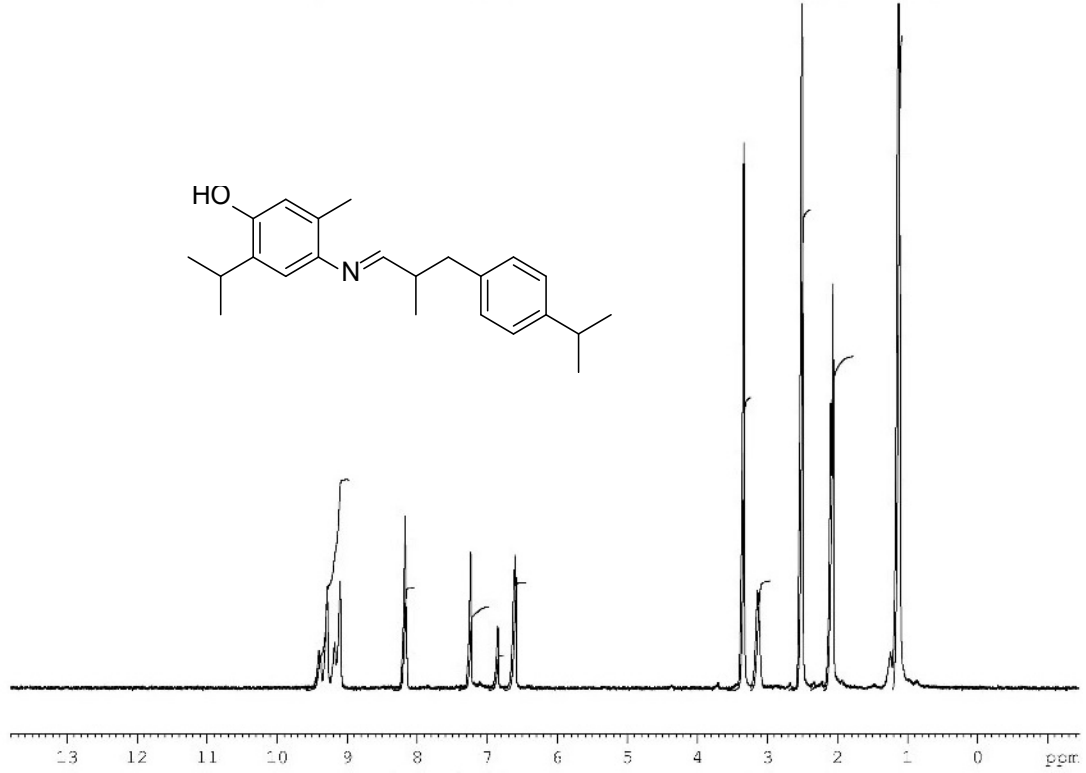


Şekil 3.22. 4g bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.21. 4g bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
C-H	2954.8, 2903.4
C=N	1621.3
C=C	1602.1
C-H	1508.8, 1448.7
C-O	1257.5

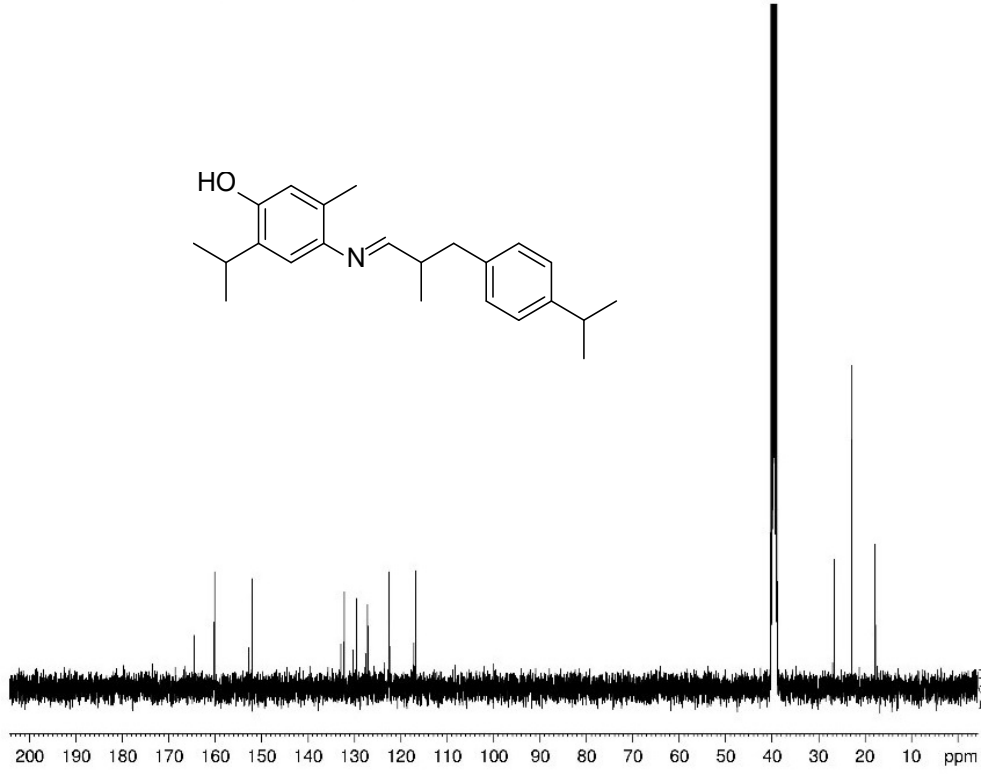
3.2.8. (E)-2-izopropil-4-(3-(4-izopropilfenil)-2-metilpropilidenamino)-5-metilfenol (4h)



Şekil 3.23. 4h bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.22. 4h bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

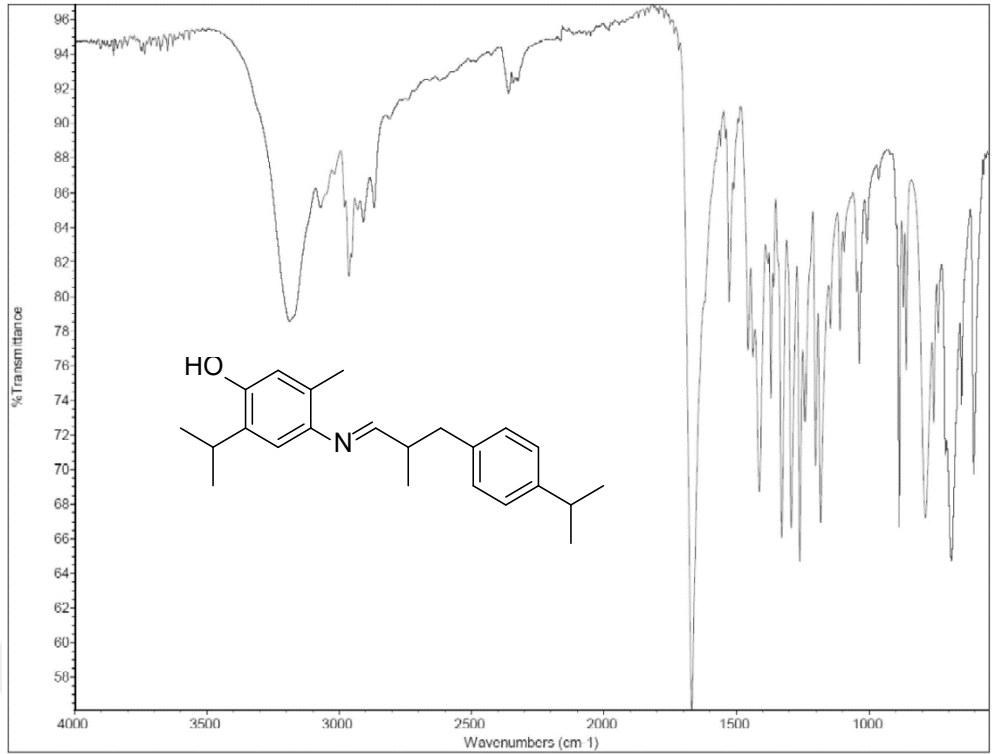
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.12 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 6H)
CH ₃	2.22 (s, 3H)
CH(CH ₃)	2.50 (4H)
CH(CH ₃) ₂	3.14 (septet, <i>J</i> : 8 Hz, 1H)
CH(CH ₃)CH ₂	3.34 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 2H)
Ar-H; N=CH	6.40-9.40 (m, 7H)



Şekil 3.24. 4h bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.23. 4h bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	17.75, 17.87
$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$	22.85, 22.92
CCH_3	26.57
Ar-C	117.23, 122.50, 122.61, 127.19, 129.54, 130.30 132.22, 132.97, 152.10, 152.80, 160.22
$\text{N}=\text{CH}$	164.56

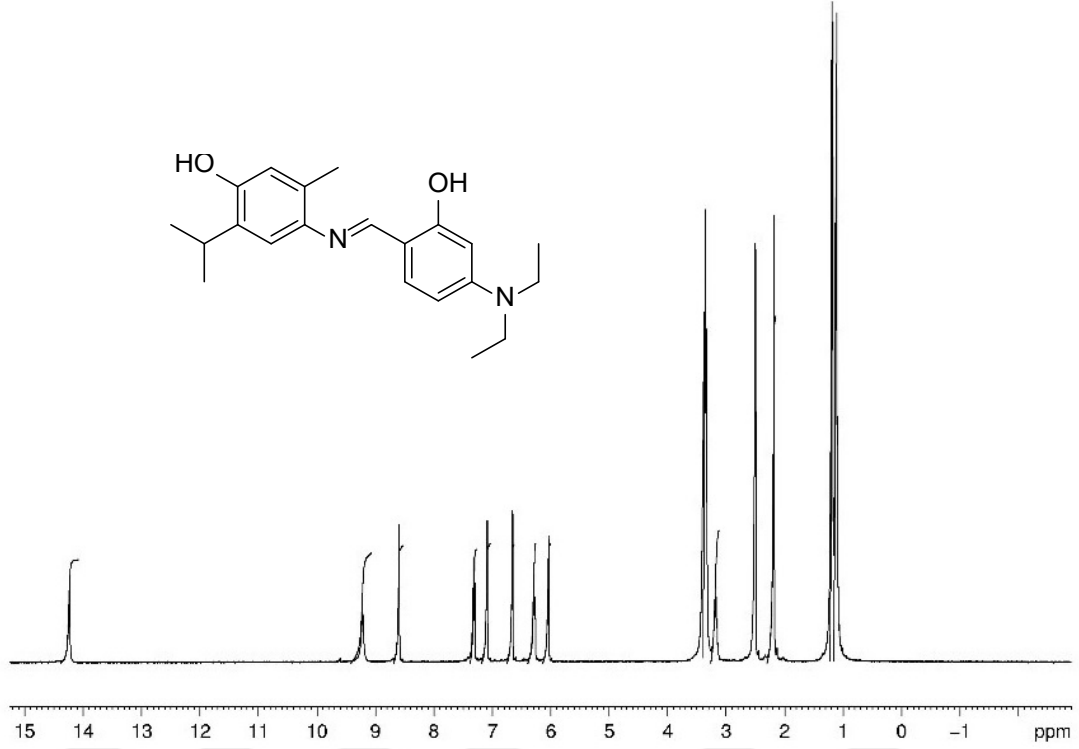


Şekil 3.25. 4h bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.24. 4h bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3187.0
C-H	2962.5, 2908.4
C=N	1667.2
C=C	1525.8
C-H	1454.4, 1411.6
C-O	1258.9

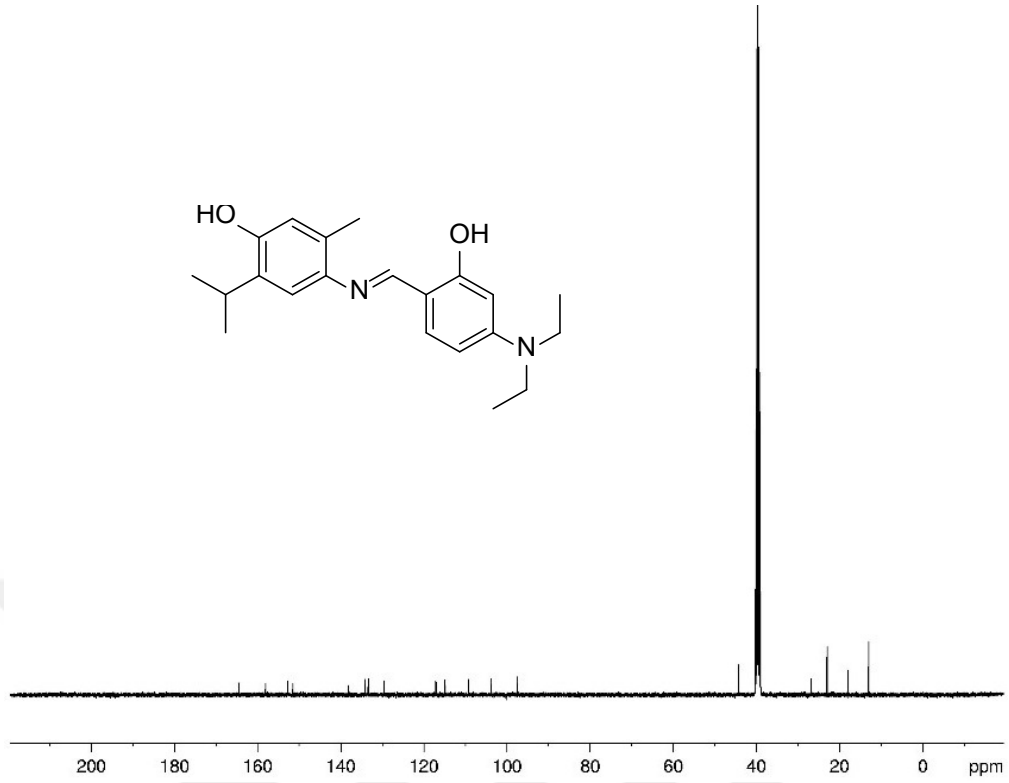
3.2.9. (*E*)-4-(4-(diethylamino)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4i)



Şekil 3.26. 4i bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.25. 4i bileşiğinin ^1H kimyasal kaymaları

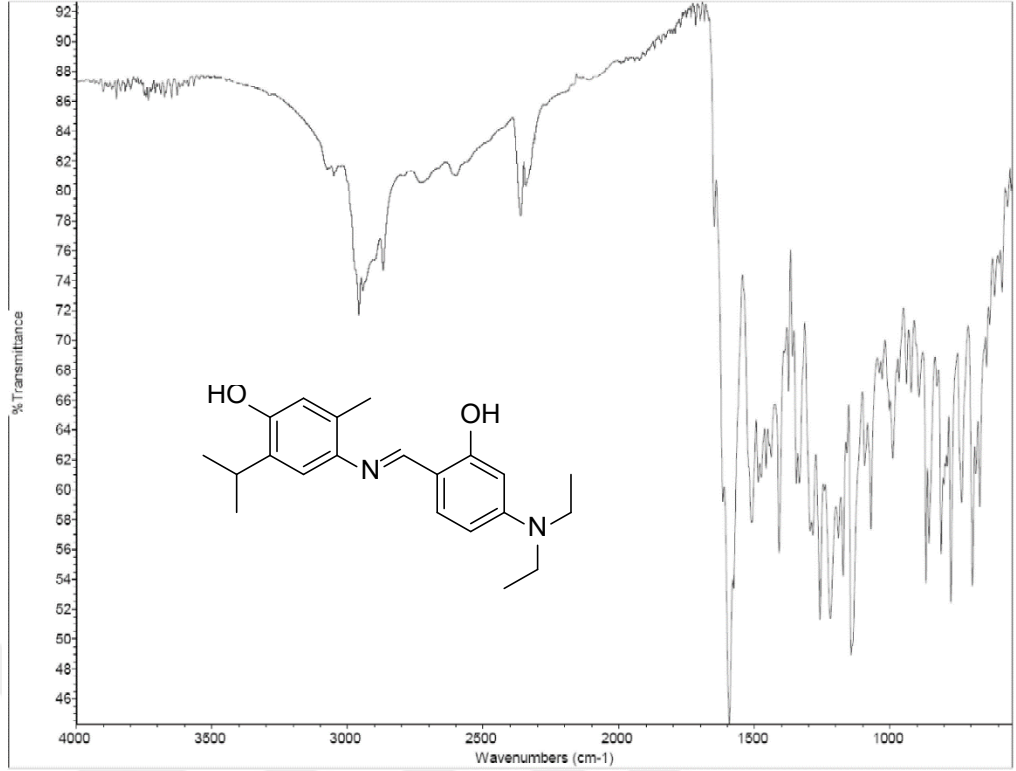
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	1.11 (t, J : 8 Hz, 6H)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	1.19 (d, J : 8 Hz, 6H)
CH_3	2.18 (s, 3H)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	3.34 (septet, J : 8 Hz, 1H)
$\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	3.38 (q, J : 8 Hz, 4H)
Ar-H	6.04-7.32 (m, 5H)
$\text{N}=\text{CH}$	8.60 (s, 1H)
O-H	9.22, 14.23 (s, 2H).



Şekil 3.27. 4i bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.26. 4i bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	12.98, 17.96
CH(CH ₃) ₂	22.99
CCH ₃	26.87
N(CH ₂ CH ₃) ₂	44.34
Ar-C	103.92, 109.28, 114.94, 117.13, 129.56, 133.41, 134.11, 138.16, 151.52, 152.83, 158.10
N=CH	164.52

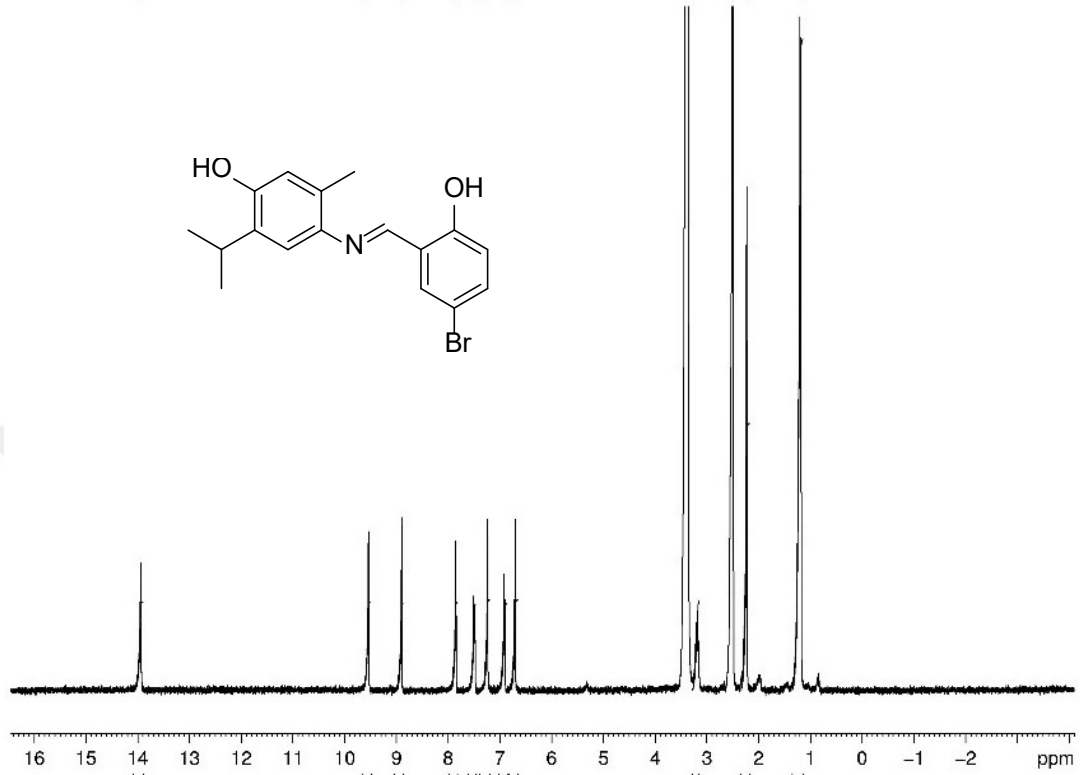


Şekil 3.28. 4i bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.27. 4i bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
C-H	2956.7, 2867.2
C=C, C=N	1592.1
C-H	1510.8, 1408.1
C-O	1344.4, 1283.9
C-N	1257.5

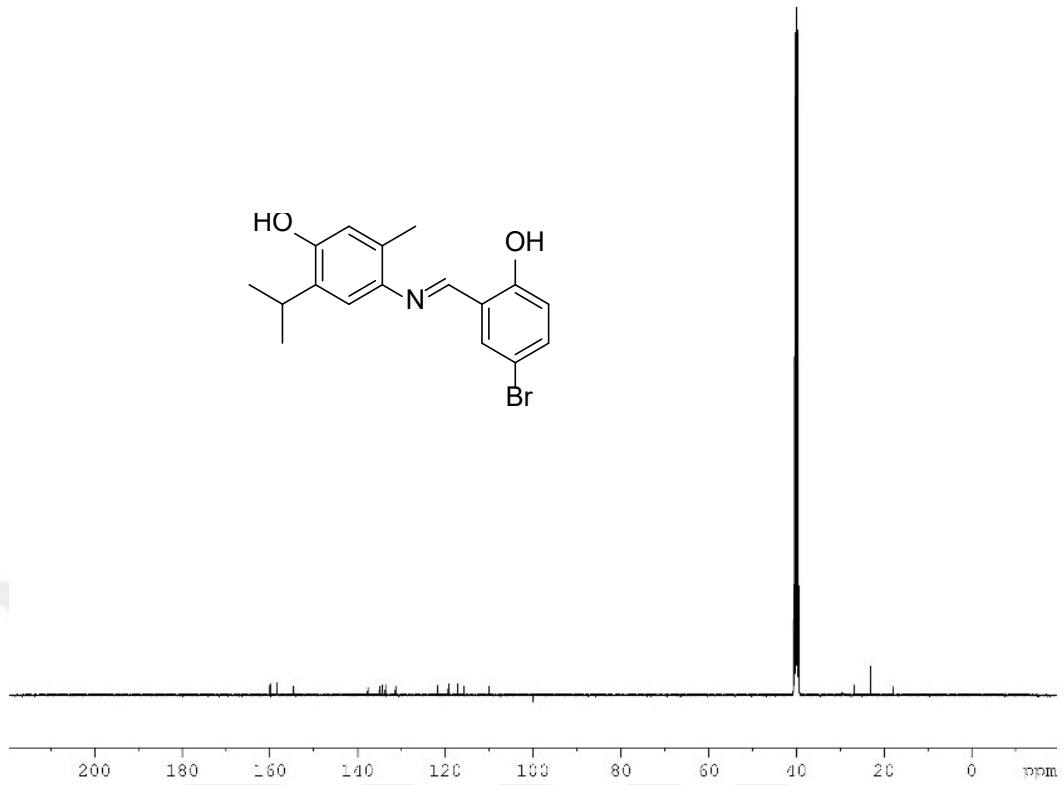
3.2.10. (*E*)-4-(5-bromo-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4j)



Şekil 3.29. 4j bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.28. 4j bileşiğinin ^1H kimyasal kaymaları

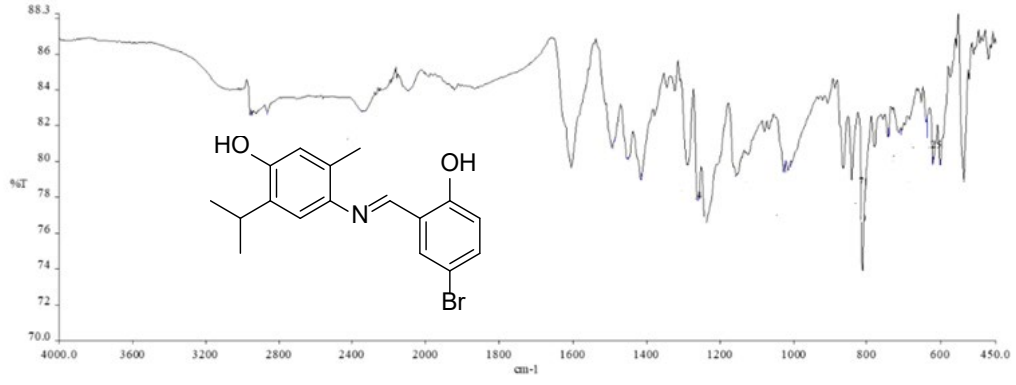
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	1.20 (d, J : 8 Hz, 6H)
CH_3	2.23 (s, 3H)
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	3.20 (septet, J : 8 Hz, 1H)
Ar-H	6.71-7.85 (m, 5H)
N=CH	8.93 (s, 1H)
O-H	9.61, 14.00 (s, 2H)



Şekil 3.30. 4j bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.29. 4j bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CCH_3	17.96
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.96, 26.84
Ar-C	109.97, 115.69, 117.18, 119.31, 121.84, 131.35, 133.65, 134.41, 135.00, 137.68, 154.63, 158.32
$\text{N}=\text{CH}$	160.00

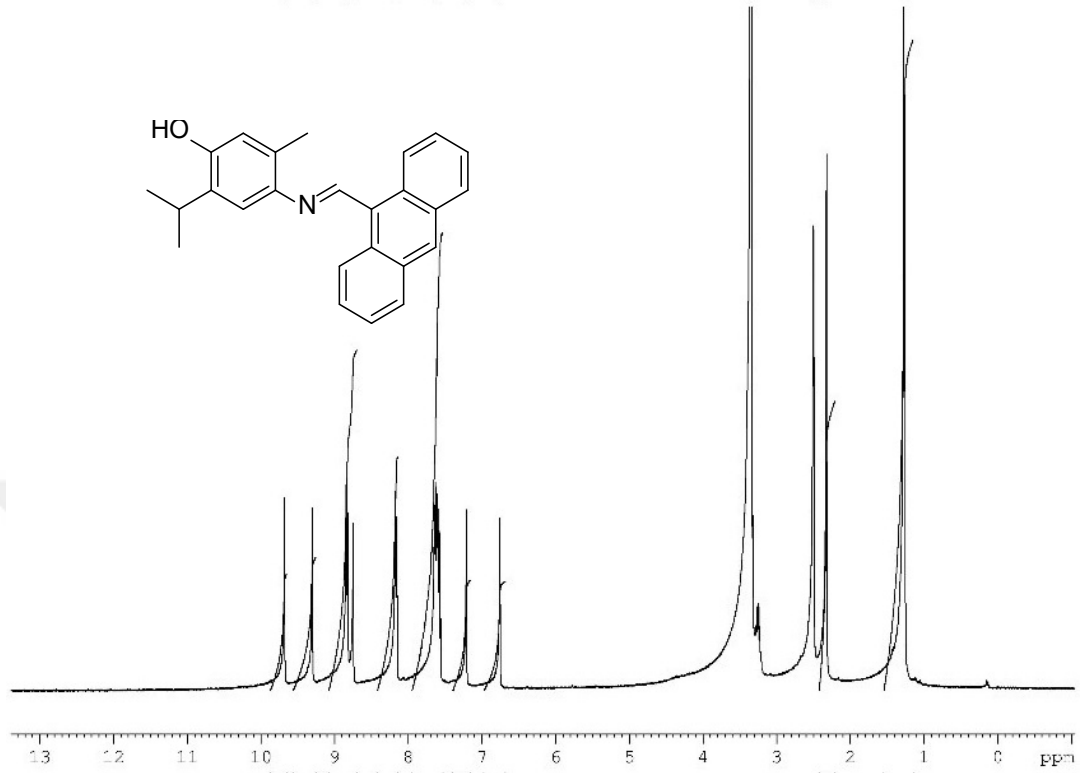


Şekil 3.31. 4j bileşiminin FTIR spektrumu

Tablo 3.30. 4j bileşiminin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
C-H	2945.2, 2861.6
C=N	1605.1
C=C	1485.1
C-H	1448.7, 1412.2
C-O	1258.8, 1240.3
C-Br	538.35

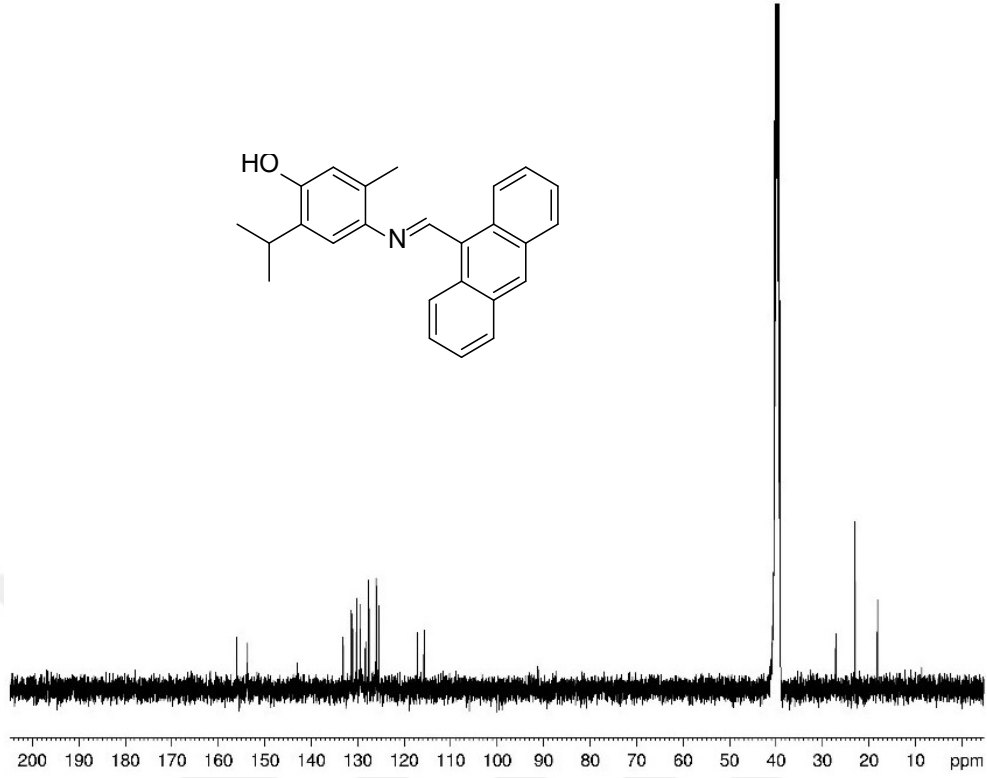
3.2.11. (E)-4-(antrasen-9-ilmetlenamino)-2-izopropil-5-metilfenol (4k)



Şekil 3.32. 4k bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆, 298 K)

Tablo 3.31. 4k bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

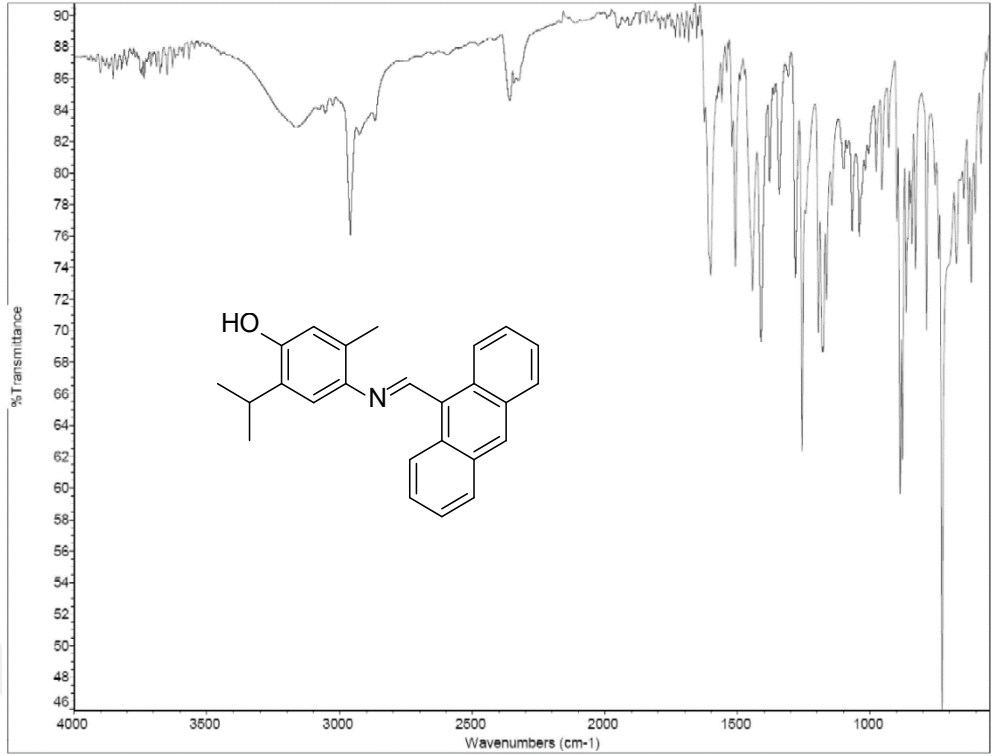
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.28 (d, <i>J</i> : 8 Hz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.32 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.25 (septet, 1H)
Ar-H, N=CH	6.75-9.68 (m, 12H)



Şekil 3.33. 4k bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6 , 298 K)

Tablo 3.32. 4k bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	18.15
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.98, 27.14
Ar-C	115.73, 117.14, 125.39, 126.03, 127.61, 128.34, 129.37, 130.27, 131.11, 131.34, 133.15, 153.72
N=CH	156.01



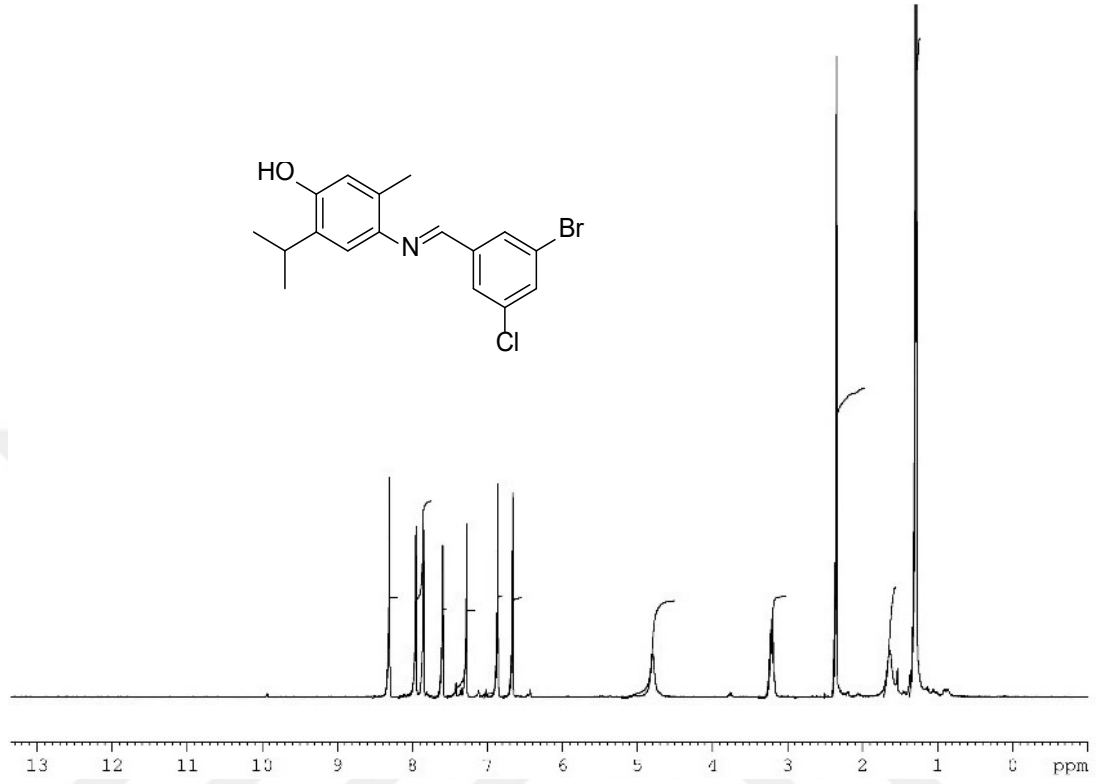
Şekil 3.34. 4k bileşiğinin FTIR spektrumu

Tablo 3.33. 4k bileşiğinin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3172.1
C-H	2960.5, 2925.9
C=N	1600.8
C=C	1558.4, 1507.5
C-H	1442.6, 1410.4
C-O	1255.5

3.2.12. (*E*)-4-(3-bromo-5-klorobenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol

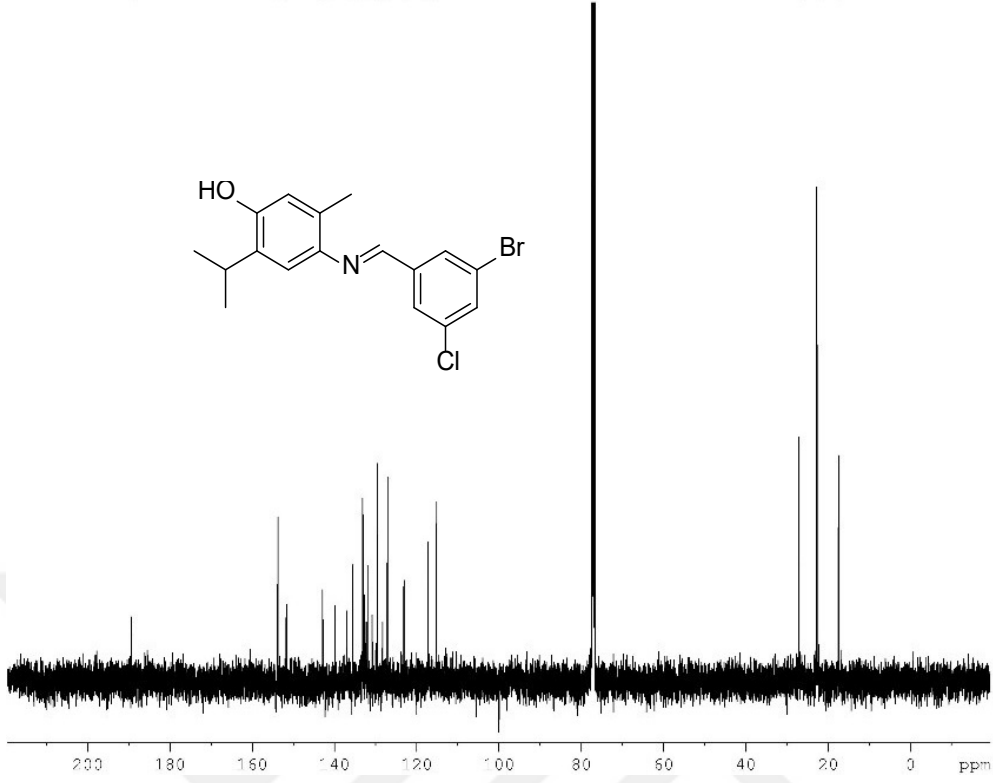
(41)



Şekil 3.35. 41 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (400 MHz, CDCl₃, 298 K)

Tablo 3.34. 41 bileşiğinin ¹H kimyasal kaymaları

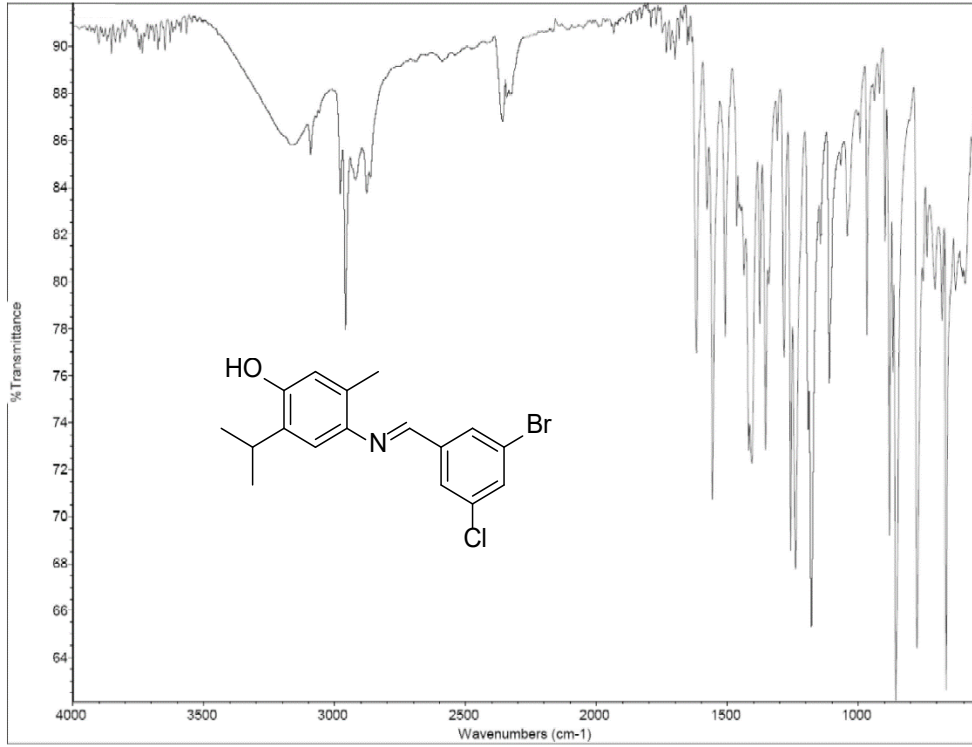
Protonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
CH(CH ₃) ₂	1.29 (d, <i>J</i> : 4 Hz, 6H)
C ₆ H ₂ CH ₃	2.35 (s, 3H)
CH(CH ₃) ₂	3.24 (septet, 1H)
O-H	4.80 (s, 1H)
Ar-H	6.66-7.95 (m, 6H)
N=CH	8.31 (s, 1H)



Şekil 3.36. 4l bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (100 MHz, CDCl_3 , 298 K)

Tablo 3.35. 4l bileşiğinin ^{13}C kimyasal kaymaları

Karbonlar	Kimyasal Kaymalar (ppm)
$\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_3$	17.43
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	22.66, 22.80
$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	27.03
Ar-C	115.15, 117.27, 123.10, 127.09, 128.25, 129.60, 131.95, 133.10, 135.58, 139.85, 142.85, 151.71, 153.72
N=CH	189.34



Şekil 3.37. 4l bileşiminin FTIR spektrumu

Tablo 3.36. 4l bileşiminin FTIR absorpsiyon frekansları

Fonksiyonel Gruplar	Dalga Sayıları (cm ⁻¹)
O-H	3167.2
C-H	2957.8, 2920.6
C=N	1617.5
C=C	1556.6, 1507.7
C-H	1463.8, 1405.7
C-O	1238.6
C-Cl	630.57
C-Br	594.39

3.3. Bileşiklerin Antiproliferatif Aktiviteleri

Sentezlenen bileşiklerin hesaplanan IC₅₀ değerleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.37. Bileşiklerin IC₅₀ (µM) değerleri

Bileşik	HepG2	DLD-1	MCF-7	A549	HEK-293T
Timol	287.60	88.17	166.00	196.60	426.50
4a	79.78	43.15	40.94	69.93	64.34
4b	55.32	30.62	35.36	49.76	67.55
4c	56.51	48.54	48.10	65.17	62.11
4d	46.50	20.19	23.56	49.51	13.55
4e	40.11	34.26	30.19	54.84	20.90
4f	5.73	4.08	12.95	9.49	33.46
4g	84.63	30.66	37.68	110.50	56.83
4h	96.27	70.53	153.50	131.10	258.80
4i	30.25	48.31	55.81	59.13	165.90
4j	41.62	18.95	11.17	54.52	11.05
4k	38.90	15.33	19.79	30.88	96.60
4l	44.91	30.66	14.46	33.31	98.84
Sisplatin	21.19	24.09	34.99	5.62	11.40
Paklitaksel	15.40	20.37	106.90	15.97	129.60

Bileşiklerin seçicilik indeksleri $SI = \left(\frac{IC_{50}(HEK-293T)}{IC_{50}(Kanser\ hücre\ hattı)} \right)$ formülüyle hesaplanmış olup, sonuçlar Tablo 3.3’te verilmiştir.

Tablo 3.38. Bileşiklerin seçicilik indeksleri

Bileşik	HepG2	DLD-1	MCF-7	A549
Timol	1.48	4.84	2.57	2.17
4a	0.81	1.49	1.57	0.92
4b	1.22	2.21	1.91	1.36
4c	1.10	1.28	1.29	0.95
4d	0.29	0.67	0.58	0.27

Tablo 3.38. Bileşiklerin seçicilik indeksleri (devam)

4e	0.52	0.61	0.69	0.38
4f	5.84	8.20	2.58	3.53
4g	0.67	1.85	1.51	0.51
4h	2.69	3.67	1.69	1.97
4i	5.48	3.43	2.97	2.81
4j	0.27	0.58	0.99	0.20
4k	2.48	6.30	4.88	3.13
4l	2.20	3.22	6.84	2.97
Sisplatin	0.52	0.47	0.33	2.03
Paklitaksel	8.42	6.36	1.21	8.12

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Kanser, DNA dizilimindeki genetik anormalliklerden kaynaklanan, düzensiz hücre büyümesine ve çoğalmasına yol açan ölümcül bir hastalıktır [52]. Dünya Sağlık Örgütü'nün en son verileri, 2022 yılında dünya genelinde yaklaşık 10,3 milyon kayıtlı kanser vakası ve 5,4 milyon kansere bağlı ölüm olduğunu göstermektedir. En sık teşhis edilen üç kanser türü akciğer kanseri (2,48 milyon vaka), meme kanseri (2,29 milyon vaka) ve kolorektal kanserdir (1,92 milyon vaka). Kadınlarda en sık teşhis edilen kanser türü memeyken, erkeklerde akciğerdir [53]. Kanser tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, eldeki veriler, kanserin dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam ettiğini göstermektedir. Bu nedenle, yeni ve daha etkili antikanser ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Doğal bileşikler, benzersiz kimyasal yapıları ve çok çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle ilaç geliştirme çalışmalarında önemli bir rol edinmiştir. Geçmişte birçok geleneksel tedavide doğal kaynaklardan elde edilen kimyasallar kullanılmıştır [54]. Bilim insanları, daha güçlü analoglar oluşturmak için doğada bulunan moleküllerin kimyasal yapılarını türevlendirerek terapötik potansiyellerini artırmaya çalışmaktadır.

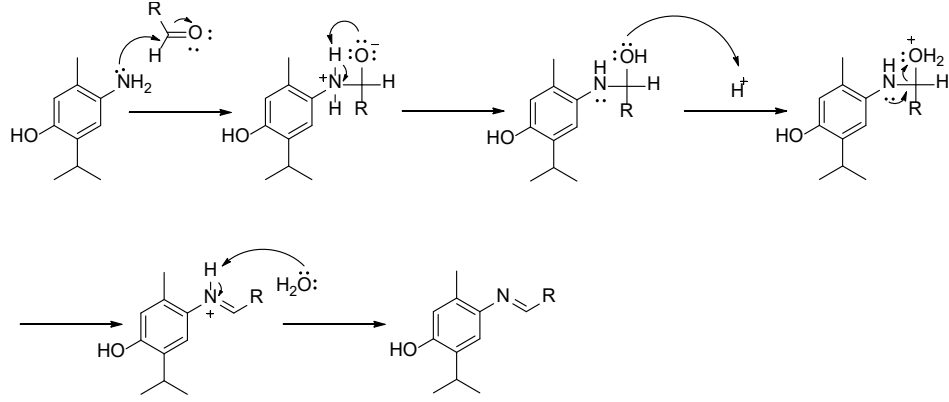
Bu tez çalışmasında, timol bazlı yeni biyoaktif bileşiklerin sentezlenmesi ve antiproliferatif etkileri incelenerek antikanser ilaç geliştirme çalışmalarına katkıda bulunması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, timol içeren 12 yeni imin bileşiği sentezlenmiş, spektroskopik yöntemlerle karakterize edilmiş ve 4 farklı kanser hücre hattına uygulanmıştır. Ayrıca, sentezlenen bileşiklerin tamamı sağlıklı insan hücre hattına karşı da test edilmiştir.

4.1. Bileşiklerin Sentezi

Başlangıç maddesinin öncülü olan 2-izopropil-5-metil-4-nitrozofenol (2) bileşiği, timolün NaNO_2 ile nitrozolanmasıyla elde edilmiştir.

NaNO_2 , güçlü bir asit olan HCl ile reaksiyona girerek HNO_2 oluşturur. HNO_2 kararlı değildir ve tekrar reaksiyona girerek NO^+ iyonu verir. Fenol halkası nükleofil olarak davranır ve π elektronlarını NO^+ iyonuna vererek arenyum iyonu oluşturur. Arenyum iyonu kararlı bir ara ürün değildir, rezonans ile stabilize olsa da

grubunun ayrılmasıyla iminyum iyonu oluşur. Azotun deprotonize olmasıyla da imin bileşiği elde edilir [57].



Şekil 4.3. İmin bileşiklerinin oluşum mekanizması

Reaktiflerin elektronik yapısı, indüktif ve mezomerik etkilerle imin oluşumunu kolaylaştırabilir veya zorlaştırabilir. En yüksek verim, %83.34 ile 3-bromo-5-klorobenzaldehit (**4l**) ile gerçekleşen reaksiyonla elde edilmiştir. 1*H*-Pirrol-2-karbaldehit (**4a**) ve 5-metil-2-tiyofenkarbaldehit (**4b**) ile gerçekleşen reaksiyonlarda da, sırasıyla %79.39 ve %76.15 gibi nispeten yüksek verimler gözlenmiştir. Bu durum, muhtemelen heterosiklik halkada bulunan azot ve kükürt atomları ile brom ve klor atomlarının elektron çekici etkisinden kaynaklanmaktadır. Elektron çekici gruplar C=O karbonunun elektrofilliğini artırarak nükleofilik saldırıyı kolaylaştırır. Buna karşılık, 2-hidroksi-3-metilbenzaldehit (**4c**), 3-(4-izopropilfenil)-2-metilpropanal (**4h**), 2-hidroksi-5-metoksibenzaldehit (**4e**) ve 4-(diethylamino)-2-hidroksibenzaldehit (**4i**) ile gerçekleşen reaksiyonların sırasıyla %43.83, %30.27, %22.08 ve %19.41 gibi düşük verimlerle sonuçlanması, elektron verici özellikteki -OH, -OCH₃, alkil ve -N(CH₂CH₃)₂ gruplarının C=O karbonunun elektrofilliğini azaltarak reaksiyonu zorlaştırmasından kaynaklanabilir.

Ayrıca, elektron çekici (-F, -Br) ve elektron verici (-OH) sübstitüentleri aynı anda içeren 4-floro-2-hidroksibenzaldehit (**4d**) ve 5-bromo-2-hidroksibenzaldehitin (**4j**) reaksiyonları incelendiğinde, verimlerin sadece elektron çekici gruplar içeren grupları içeren reaktiflerin reaksiyonlarından düşük ve sadece elektron verici grupları içeren reaktiflerin reaksiyonlarından yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla %67.28 ve %62.06). Bu ara verim, zıt indüktif etkilerin dengesiyle açıklanabilir.

Sterik faktörler de reaksiyonların verimini belirlemede önemli bir rol oynar. Hacimli süstitüentler, sterik engeller oluşturarak başlangıç maddesindeki azot atomunun C=O karbonuna yaklaşmasını zorlaştırarak verimi düşürebilir. Bu etki, [1,1'-bifenil]-4-karbaldehit (**4g**) ile gerçekleşen reaksiyonda görülmektedir (verim %53.77). Bifenil grubu zayıf bir elektron çekici etki gösterse de, hacimli oluşu başlangıç maddesindeki azot atomunun C=O karbonuna yaklaşmasını zorlaştırır [57, 58].

4.2. Bileşiklerin Karakterizasyonu

Sentezlenen bileşikler, ¹H NMR, ¹³C NMR ve FTIR spektroskopileri kullanılarak karakterize edilmiştir. Gözlemlenen tüm pikler beklenen fonksiyonel gruplar ve süstitüentler için öngörülen bölgelerle eşleşmektedir. Ayrıca, **4f** bileşiği üzerinden gerçekleştirilen COSY ve NOESY deneyleri ile moleküllerin geometrileri tespit edilmiştir.

Tüm bileşikler, izopropil grubunun altı protonuna (CH(CH₃)₂) karşılık gelen δ 1.12-1.30 ppm arasında dublet ve aynı grubun CH protonu için δ 3.14-3.34 ppm arasında septet ile karakteristik sinyaller sergilemiştir. Bu kimyasal kaymalar ve yarıma modelleri, daha önce bildirilen verilerle uyum göstermektedir [59].

Bileşikler, aromatik metil protonları ve ilave metil grupları için δ 2.18-2.71 ppm aralığında singlet sinyal göstermiştir, bu da aromatik halkalara bağlı metil grupları için rapor edilen tipik değerlerle uyumludur [60].

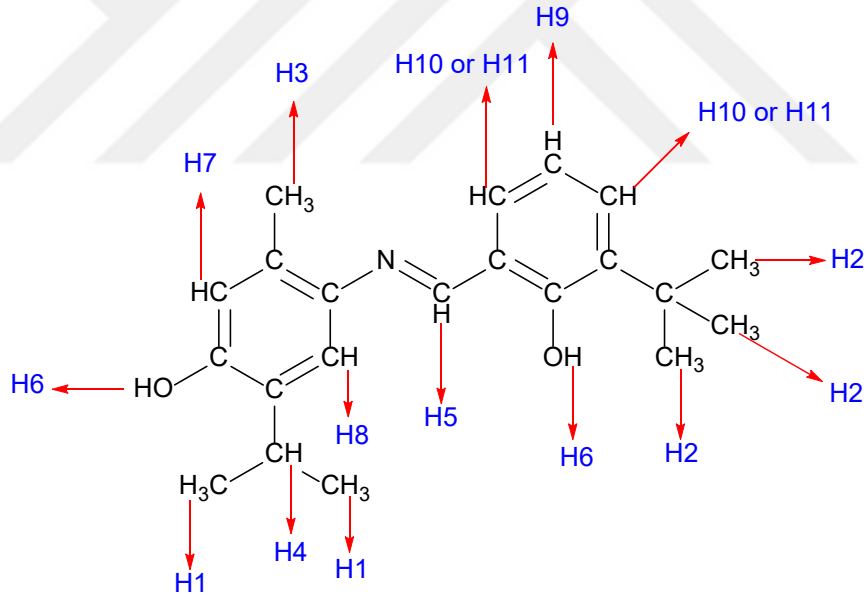
Aromatik ve heteroaromatik protonlar, literatür verileriyle tutarlı olarak [61, 62], δ 6.04-8.34 ppm aralığında multipler sinyal olarak ortaya çıkmıştır. Hidroksil gruplarına ait protonlar, δ 4.80-14.28 ppm arasında singlet sinyal göstermiştir; bu da hidrojen bağlarının perdeleme etkisinden dolayı hidroksil protonları için beklenen geniş aralığa uygundur [63]. Tüm bileşikler için imin protonları δ 8.31-9.68 ppm arasında singlet sinyal olarak gözlenmiştir ve bilinen değerlerle uyumludur [64].

¹³C NMR spektrumları, ¹H NMR verileriyle tutarlıdır ve çeşitli fonksiyonel gruplar için beklenen aralıklarda sinyaller göstermiştir [65]. İzopropil karbonları δ 15.59-29.44 ppm arasındaki sinyallerle tanımlanırken, metil karbonları δ 12.98-22.80 ppm aralığında ortaya çıkmıştır. Aromatik karbonlar δ 103.92-160.22 ppm arasında, imin karbonları ise δ 156.01-197,93 ppm civarında gözlenmiştir ve literatür verileriyle

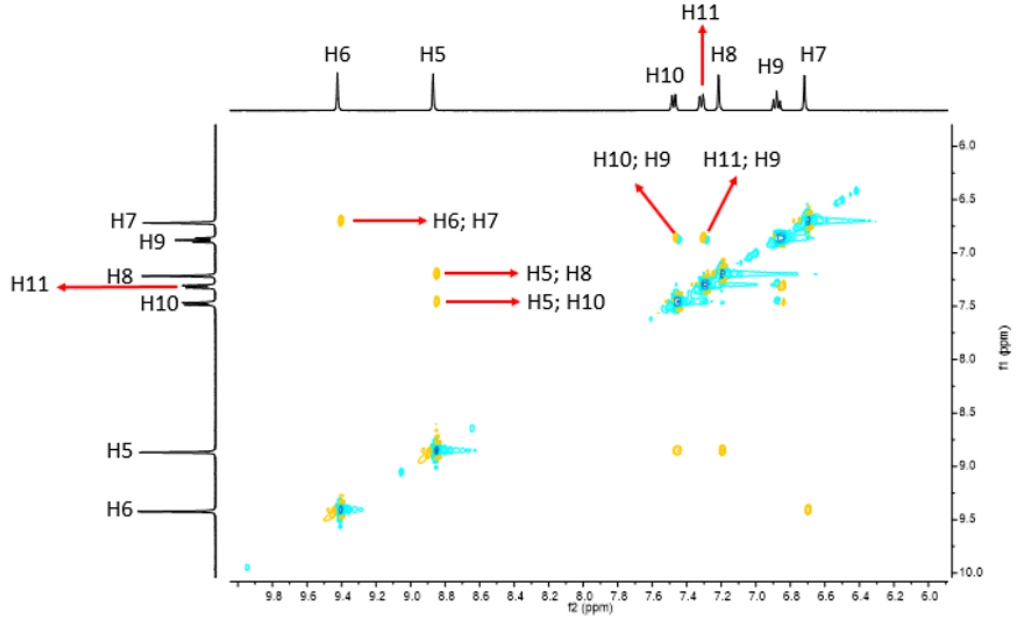
eşleşmektedir [66]. **4f** bileşiğindeki *tert*-bütil grubu için δ 34.86 ppm'de sinyal tespit edilmiş olup, benzer alkil sübtitüe aromatik bileşikler için rapor edilen verilerle tutarlıdır [67].

4e bileşiği, metoksi grubunun protonları için δ 3.84 ppm'de karakteristik bir singlet ve δ 55.99 ppm'de karşılık gelen karbon sinyalleri göstermiştir. Bu kaymalar, metoksi-sübtitüe aromatik bileşikler için literatürde bildirilen değerlerle uyumludur [68]. Dietilamino grubu içeren **4i** bileşiği, δ 44.34 ppm'de karbon sinyalleri ile; 1.11 ppm'de bir triplet ve δ 3.38 ppm'de bir kuartet olarak gözlenen proton sinyalleri vermiştir. Bu gözlem, mevcut literatür verileriyle uyum göstermektedir [69].

COSY deneyi ile gerçekleştirilen proton tayinleri Şekil 4.4.'te verilmiştir. NOESY ile imin protonu (H5) ve aromatik proton (H8) arasında E geometrisini destekleyen bir çapraz pik olduğu tespit edilmiştir [70].



Şekil 4.4. **4f** bileşiğinin proton tayinleri



Şekil 4.5. Protonlar arasındaki çapraz piklerin temsili

FTIR spektrumları, tüm bileşiklerde tutarlı olan C=C (aromatik halka), C-O ve O-H (fenolik yapı) ile C=N (imin grubu) gibi bazı temel absorpsiyon bantları sergilemektedir.

Aromatik halkaların varlığı, $1485.1-1602.1 \text{ cm}^{-1}$ bölgesinde gözlenen C=C gerilme titreşimleriyle doğrulanmıştır. Aromatik halkaya bağlı hidroksil grubunun C-O gerilme titreşimleri $1176.1-1344.4 \text{ cm}^{-1}$ aralığında, O-H gerilme titreşimleri ise $3167.2-3346.1 \text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenmiştir. Bu değerler, bileşiklerin fenolik yapısını desteklemektedir [71]. İmin bağının göstergesi olan C=N gerilme titreşimleri ise $1592.1-1667.2 \text{ cm}^{-1}$ aralığında tespit edilmiştir [72].

4a bileşiği, yapısındaki pirol halkasına bağlı olarak 3325.0 cm^{-1} 'de N-H ve 1310.1 cm^{-1} 'de C-N titreşimleri vermiştir. Benzer şekilde, dietilamino sübstitüenti taşıyan **4i** bileşiğinde de 1275.5 cm^{-1} 'de C-N titreşimi gözlenmiştir [73].

4b bileşiği ise 650.94 cm^{-1} 'de C-S gerilme titreşimine karşılık gelen bir absorpsiyon sergilemiştir [74].

4j ve **4l** bileşikleri için 630.57 cm^{-1} , 594.39 cm^{-1} ve 538.35 cm^{-1} bölgelerinde karbon-halojen bağının varlığını doğrulayan titreşimler gözlenmiştir [75].

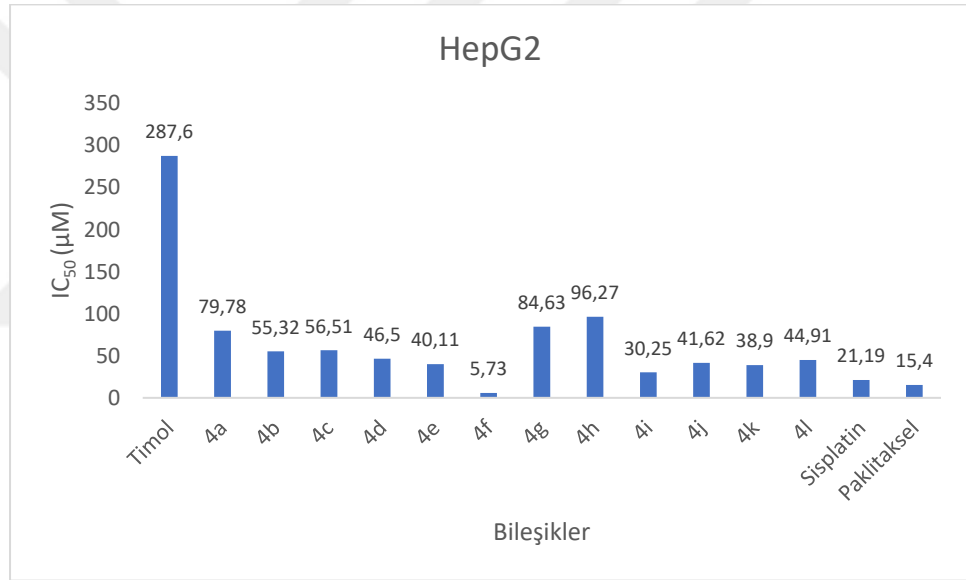
4.3. Bileşiklerin Antiproliferatif Aktiviteleri

4.3.1. HepG2 Hücre Hattı

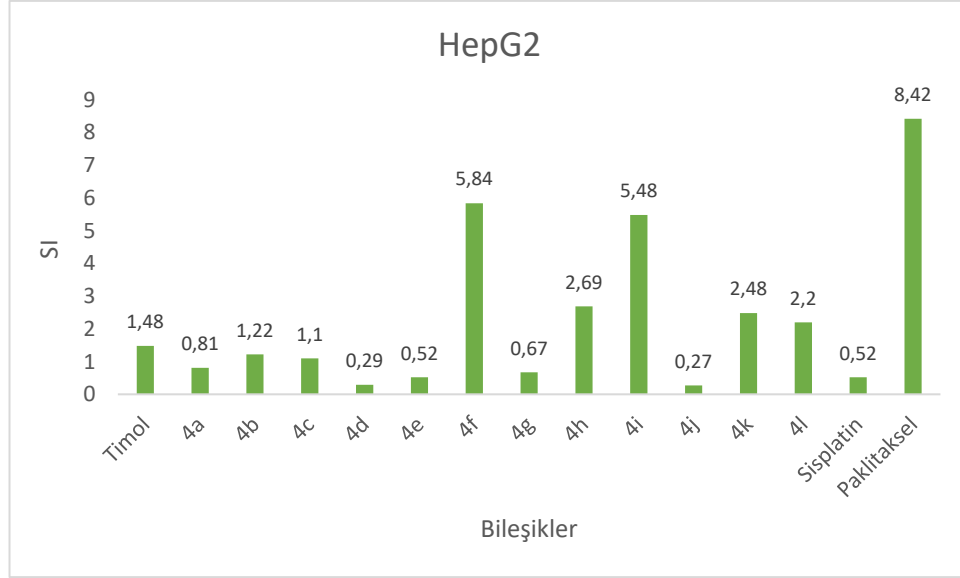
Referans olarak kullanılan paklitaksel, beklendiği gibi düşük IC₅₀ değeri (15.4 µM) ve yüksek seçiciliği (8.41) ile en etkili bileşik olmuştur. Benzer şekilde **4f** bileşiği de 5.73 µM IC₅₀ değeri ve 5.84 seçicilik indeksiyle karaciğer kanseri hücrelerinde oldukça iyi etkinlik sergilemiştir.

4i bileşiği, çok düşük olmayan IC₅₀ değerine karşın (30.25 µM), yüksek seçicilik göstererek (5.48) umut vadeden bir molekül olmuştur.

4a, **4g**, **4e** ve **4d** bileşikleri ise < 1 seçicilik indeksleriyle (sırasıyla 0.81, 0.67, 0.52 ve 0.29) sağlıklı hücelere karşı daha yüksek toksisite göstermişlerdir.



Şekil 4.6. Bileşiklerin HepG2 hücre hattındaki IC₅₀ değerleri



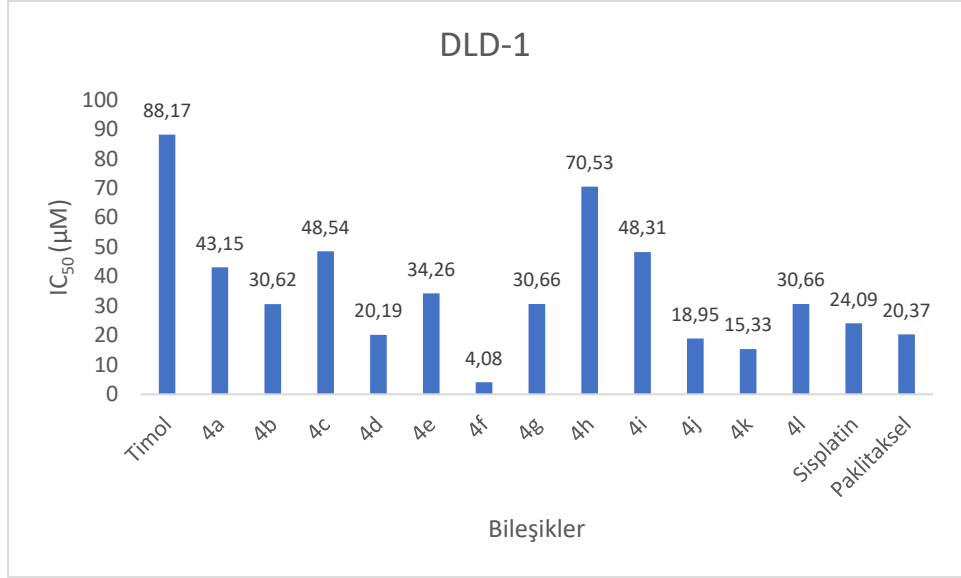
Şekil 4.7. Bileşiklerin HepG2 hücre hattındaki seçiciliği

4.3.2. DLD-1 Hücre Hattı

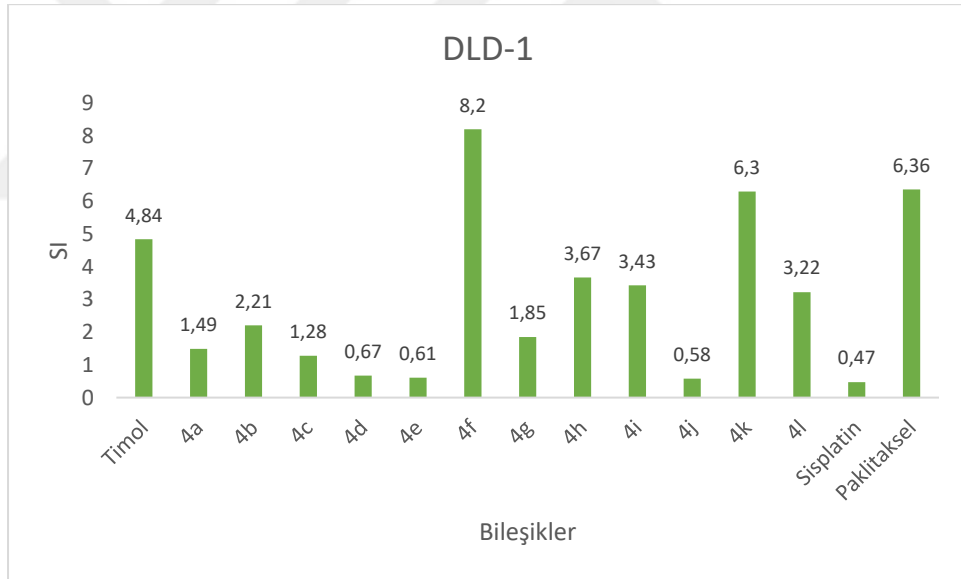
4f ve **4k** bileşikleri, düşük IC_{50} değerleri (sırasıyla $4.08 \mu M$ ve $15.33 \mu M$) ve yüksek seçicilik indeksleriyle (sırasıyla 8.20 ve 6.30) oldukça iyi etkinlik sergilemiştir.

4i ve **4l** bileşikleri, orta seviyede IC_{50} değerleri (sırasıyla $48.31 \mu M$ ve $30.66 \mu M$) ve seçicilikleriyle (sırasıyla 3.43 ve 3.22) sınırlı potansiyel ortaya koymuştur.

4j, **4e** ve **4d** bileşikleri ise, <1 seçicilik göstermiş (sırasıyla 0.58, 0.61 ve 0.67) ve sağlıklı hücreleri kanser hücrelerinden daha çok etkilemiştir.



Şekil 4.8. Bileşiklerin DLD-1 hücre hattındaki IC₅₀ değerleri

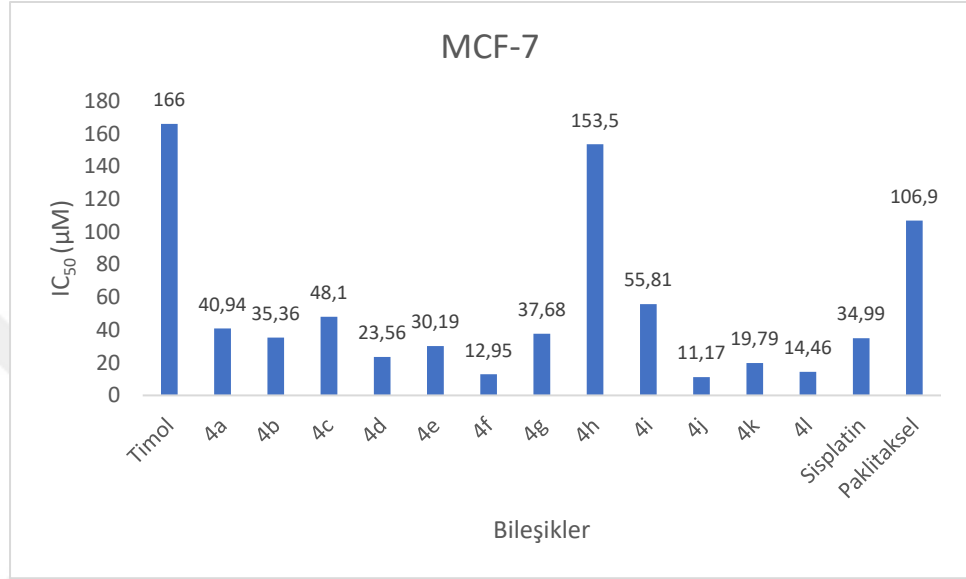


Şekil 4.9. Bileşiklerin DLD-1 hücre hattındaki seçiciliği

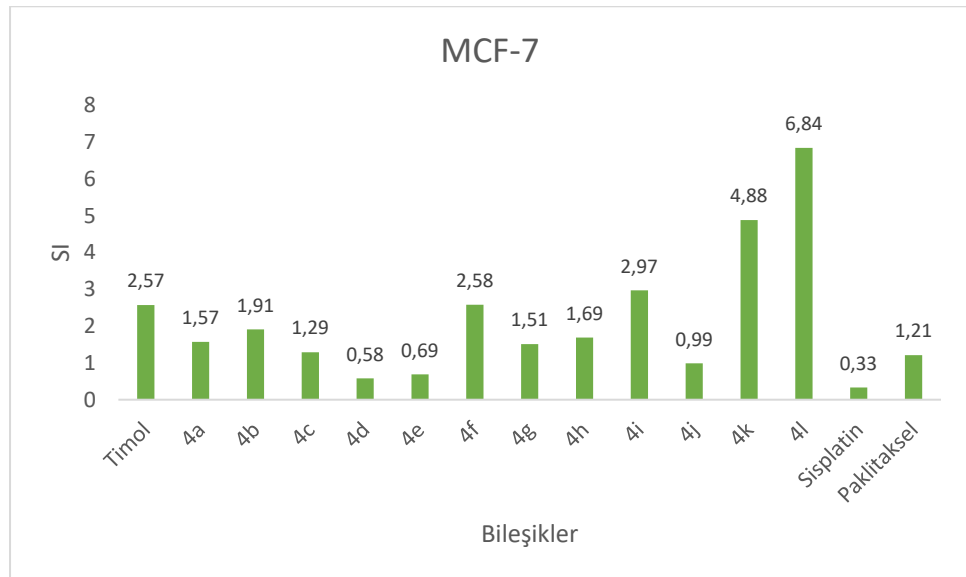
4.3.3. MCF-7 Hücre Hattı

4l ve **4k** bileşikleri düşük IC_{50} değerleri (sırasıyla 14.46 μ M ve 19.79 μ M) ve yüksek seçicilikleriyle (sırasıyla 6.34 ve 4.88) oldukça iyi etkinlik sergilemiştir.

4d, **4e** ve **4j** bileşikleri ise, 1'in altındaki seçicilik indeksleriyle (sırasıyla 0.58, 0.69 ve 0.99) beklenenin tam tersi bir etki göstermiştir.



Şekil 4.10. Bileşiklerin MCF-7 hücre hattındaki IC_{50} değerleri



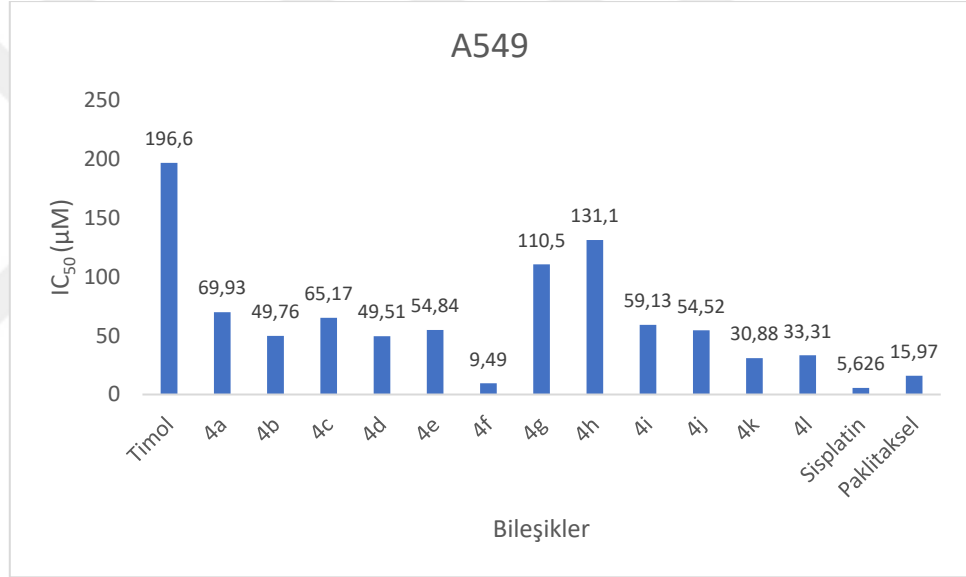
Şekil 4.11. Bileşiklerin MCF-7 hücre hattındaki seçiciliği

4.3.4. A549 Hücre Hattı

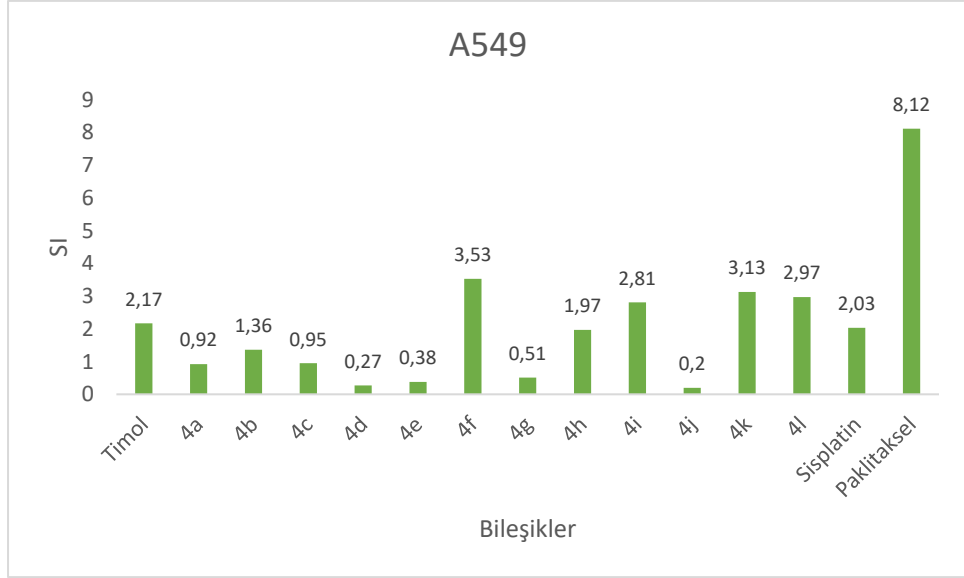
HepG2 hücre hattında olduğu gibi, burada da referans bileşik paklitakselin 15.97 μM IC_{50} değeri ve 8.12 seçicilik indeksiyle en güçlü etkiye sahip olduğu görülmektedir. **4f** bileşiği, paklitakselden daha düşük IC_{50} değeri sergilese de (9.49 μM), orta seviyede seçicilik ortaya koymuştur (3.53).

4k bileşiği, 30.88 μM IC_{50} değeri ve 3.13 seçicilik indeksiyle **4f** ile birlikte orta seviyede etkinlik gösteren bir diğer molekül olmuştur.

4c, **4a**, **4g**, **4e**, **4d** ve **4j** bileşikleri ise sırasıyla 0.95, 0.92, 0.51, 0.38, 0.27 ve 0.20 seçicilik indeksleriyle sağlıklı hücreleri kanser hücrelerinden daha çok etkilemiştir.



Şekil 4.12. Bileşiklerin A549 hücre hattındaki IC_{50} değerleri



Şekil 4.13. Bileşiklerin A549 hücre hattındaki seçiciliği

Elde edilen bulgular ışığında, antikanser etkiye sahip olduğu tespit edilen **4f** ((*E*)-4-(3-(tert-butil)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol), **4i** ((*E*)-4-(4-(diethylamino)-2-hidroksibenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol), **4k** ((*E*)-4-(antrasen-9-ilmetylenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) ve **4l** ((*E*)-4-(3-bromo-5-klorobenzilidenamino)-2-izopropil-5-metilfenol) bileşiklerinin ilaç aday molekülü olma potansiyellerinin daha iyi anlaşılabilmesi için, etki mekanizmaları üzerine çalışmaların ve *in vivo* testlerin önümüzdeki yıllarda yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Adhar M, HadjKacem B, Périno-Issartier S, Ben Amor I, Feki A, Gargouri J, et al. Thymol-enriched extract from *Thymus vulgaris* L leaves: Green extraction processes and antiaggregant effects on human platelets. *Bioorganic Chemistry*. 2022;125:105858.
2. The European Chemicals Agency. Thymol [cited 2024 23.07]. Available from: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/11030/1/1>.
3. Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Tae H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8.
4. Sisto F, Carradori S, Guglielmi P, Spano M, Secci D, Granese A, et al. Synthesis and Evaluation of Thymol-Based Synthetic Derivatives as Dual-Action Inhibitors against Different Strains of *H. pylori* and AGS Cell Line. *Molecules*. 2021;26(7).
5. Sabour A, El asbahani A, Bentahar S, Ait taleb M, Lacherai A, Jitale A. Synthesis of some thymol derivatives for enhanced antibacterial activity. *Moroccan Journal of Chemistry*. 2019;7(4):748-57.
6. Venu S, Naik DB, Sarkar SK, Aravind UK, Nijamudheen A, Aravindakumar CT. Oxidation reactions of thymol: a pulse radiolysis and theoretical study. *J Phys Chem A*. 2013;117(2):291-9.
7. Indiamart. Thymol crystals. p. <https://www.indiamart.com/proddetail/thymol-crystals-23809651897.html>.
8. Kumar A, Khan F, Saikia D. Phenolic Compounds and their Biological and Pharmaceutical Activities. 2022. p. 204-34.
9. Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 2007;105(3):940-9.
10. Radi FZ, Bouhrim M, Mechchate H, Al-zahrani M, Qurtam AA, Aleissa AM, et al. Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Thymus zygis* L. and *Thymus willdenowii* Boiss. *Essential Oils. Plants [Internet]*. 2022; 11(1).
11. Nourmohammadi S, Yousefi S, Manouchehrabadi M, Farhadi M, Azizi Z, Torkaman-Boutorabi A. Thymol protects against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in in vivo and in vitro model of Parkinson's disease via inhibiting oxidative stress. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2022;22(1):40.
12. Asle-Rousta M. The Neuroprotective Properties of Thymol and Carvacrol: A Review Study. *The Natural Products Journal*. 2024;14:1-13.
13. Rahmani F, Nabi S, Idliki RB, Alimirzaei M, Barkhordar SMA, Shafaei N, et al. Thyme Oil Nanoemulsion Enhanced Cellular Antioxidant and Suppressed Inflammation in Mice Challenged by Cadmium-Induced Oxidative Stress. *Waste and Biomass Valorization*. 2022;13(7):3139-46.

14. Tabassum H, Ahmad A, Ahmad ZI. *Nigella sativa* L. and Its Bioactive Constituents as Hepatoprotectant: A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2018;19(1):43-67.
15. Al-Khrashi LA, Badr AM, Al-Amin MA, Mahran YF. Thymol ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: Evidence of down-regulatory effect on TGF- β /MAPK pathways through NF- κ B. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2022;36(1):e22932.
16. Sheorain Jyoti, Grewal Sapna, Thakur Rajesh, Santosh K. Assessment of free-radical scavenging and anti-bacterial potential of Thymol conjugated with Gum Acacia-Chitosan copolymeric nanoformulation. *Research Journal of Biotechnology*. 2021;16(12):45-54.
17. M.B. Al-Sheerazee NM, Özgen S, Özbaş Z. Development of thymol-loaded polymeric films designed as wound dressing materials: Physical, antioxidant, antibacterial, cytocompatibility, and wound healing properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;97:105744.
18. Gao T, Zhou H, Zhou W, Hu L, Chen J, Shi Z. The Fungicidal Activity of Thymol against *Fusarium graminearum* via Inducing Lipid Peroxidation and Disrupting Ergosterol Biosynthesis. *Molecules* [Internet]. 2016; 21(6).
19. Chen C-P, Shen A-Y. Synergistic Antifungal Activities of Thymol Analogues with Propolis. *Natural Product Communications*. 2008;3(2):1934578X0800300236.
20. Robledo S, Osorio E, Muñoz D, Jaramillo LM, Restrepo A, Arango G, et al. In vitro and in vivo cytotoxicities and antileishmanial activities of thymol and hemisynthetic derivatives. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(4):1652-5.
21. Singhal B, Pandey P, Khan F, Singh S, Upadhyay T, Upadhye V, et al. In vitro Elucidation of Antiproliferative and Apoptotic Effects of Thymol against Prostate Cancer LNCaP Cells. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2021;12:1279-89.
22. Anvarbatcha R, Kunnathodi F, Islam M. Induction of G0/G1 phase cell cycle arrest and apoptosis by thymol through ROS generation and caspase-9/-3 activation in breast and colorectal cancer cell lines. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2023;19(7).
23. Ran Lv, Chen Z. Thymol inhibits cell migration and invasion by downregulating the activation of PI3K/AKT and ERK pathways in human colon cancer cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2017;16(12).
24. Qiongyao Zeng, Yuncheng Che, Yu Zhang, Mei Chen, Qiang Guo, Zhang W. Thymol Isolated from *Thymus vulgaris* L. Inhibits Colorectal Cancer Cell Growth and Metastasis by Suppressing the Wnt/ β -Catenin Pathway. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020;14:2535-47.
25. Pouyamanesh G, Ameli N, Metanat Y, Khorrani A, Abbasinezhad-Moud F, Qoorchi Moheb Seraj F, et al. Thymol Enhances 5-Fluorouracil Cytotoxicity by Reducing Migration and Increasing Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Esophageal Cancer Cells: An In-vitro Study. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2024.

26. Sowden R, Yasmin S, Rees N, Bell S, Wong L. Biotransformation of the sesquiterpene (+)-valencene by cytochrome P450(cam) and P450(BM-3). *Organic & biomolecular chemistry*. 2005;3:57-64.
27. Escobar A, Pérez M, Romanelli G, Blustein G. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*. 2020;13(12):9243-69.
28. Widmann O. Ueber eine Synthese von Thymol aus Cuminol. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1882;15(1):166-72.
29. Ali AA, Gaikar VG. Microwave-Assisted Process Intensification of Synthesis of Thymol Using Carbonized Sulfonic Acidic Resin (CSA) Catalyst. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2011;50(11):6543-55.
30. Cyril T. O'Connor, Gillian Moon, Walter Böhringer, Jack C. Q. Fletcher. Alkylation of Phenol and *m*-Cresol Over Zeolites. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 2003;68(10):1949-68.
31. Divakar KJ, Dhekne VV, Kulkarni BD, Joshi PL, Rao AS. A novel route to thymol from *m*-cresol. *Organic Preparations and Procedures International*. 2000;32(1):92-4.
32. Grabowska H, Syper L, Zawadzki M. Vapour phase alkylation of ortho-, meta- and para-cresols with isopropyl alcohol in the presence of sol-gel prepared alumina catalyst. *Applied Catalysis A: General*. 2004;277(1):91-7.
33. Nie L, Resasco DE. Improving carbon retention in biomass conversion by alkylation of phenolics with small oxygenates. *Applied Catalysis A: General*. 2012;447-448:14-21.
34. Phillips M, Gibbs HD. A Synthesis of Thymol from *p*-Cymene. *Journal of Industrial & Engineering Chemistry*. 1920;12(8):733-4.
35. Selvaraj M, Kawi S. Comparison of mesoporous and microporous solid acid catalysts for highly selective synthesis of thymol by vapor phase isopropylation of *m*-cresol. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2008;109(1):458-69.
36. Vinu A, Ariga K, Saravanamurugan S, Hartmann M, Murugesan V. Synthesis of highly acidic and well ordered MgAl-MCM-41 and its catalytic performance on the isopropylation of *m*-cresol. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2004;76(1):91-8.
37. Rajput J, Bagul S, Bendre R. Design, synthesis, biological screenings and docking simulations of novel carvacrol and thymol derivatives containing acetohydrazone linkage. *Research on Chemical Intermediates*. 2017;43.
38. Hernandez M, Cavalcanti S, Moreira D, De Azevedo Jr W, Leite A. Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design. *Current drug targets*. 2010;11:303-14.
39. Kaur R, Darokar M, Chattopadhyay S, Krishna V, Ahmad A. Synthesis of halogenated derivatives of thymol and their antimicrobial activities. *Medicinal Chemistry Research*. 2013;23.

40. Swain SS, Paidesetty SK, Padhy RN. Antibacterial activity, computational analysis and host toxicity study of thymol-sulfonamide conjugates. *Biomed Pharmacother.* 2017;88:181-93.
41. Swain SS, Paidesetty SK, Padhy RN. Synthesis of novel thymol derivatives against MRSA and ESBL producing pathogenic bacteria. *Nat Prod Res.* 2019;33(22):3181-9.
42. Zengin M, Genc H, Taslimi P, Kestane A, Guclu E, Ogotlu A, et al. Novel thymol bearing oxypropanolamine derivatives as potent some metabolic enzyme inhibitors - Their antidiabetic, anticholinergic and antibacterial potentials. *Bioorg Chem.* 2018;81:119-26.
43. Kurt BZ, Gazioglu I, Dag A, Salmas RE, Kayık G, Durdagi S, et al. Synthesis, anticholinesterase activity and molecular modeling study of novel carbamate-substituted thymol/carvacrol derivatives. *Bioorg Med Chem.* 2017;25(4):1352-63.
44. Beena, Kumar D, Rawat DS. Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff bases. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013;23(3):641-5.
45. Sahin D, Kepekci RA, Feizi-Dehnayebi M, Akkoc S, Cuevas-Vicario JV, Micale N. Biological Activities, DFT Calculations, and Molecular Docking Simulation of Thymol-Based Compounds. *ChemistrySelect.* 2024;9(23):e202304572.
46. Sahin D, Kepekci RA, Türkmenoğlu B, Akkoc S. Biological evaluations and computational studies of newly synthesized thymol-based Schiff bases as anticancer, antimicrobial and antioxidant agents. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics.* 2023:1-15.
47. Akkoç S. Antiproliferative activities of 2-hydroxyethyl substituted benzimidazolium salts and their palladium complexes against human cancerous cell lines. *Synthetic Communications.* 2019;49(21):2903-14.
48. van Meerloo J, Kaspers GJL, Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In: Cree IA, editor. *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols*, 2nd Edition. 7312011. p. 237-45.
49. Romani AMP. Cisplatin in cancer treatment. *Biochemical Pharmacology.* 2022;206:115323.
50. Sharifi-Rad J, Quispe C, Patra JK, Singh YD, Panda MK, Das G, et al. Paclitaxel: Application in Modern Oncology and Nanomedicine-Based Cancer Therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:3687700.
51. GraphPad Prism 10.1.0. Boston MA: GraphPad Software Inc.; 2023.
52. Robert K. Murray, Molly Jacob, Joe Varghese. *Cancer: An Overview.* Harper's Illustrated Biochemistry. 29nd Edition ed. New York: McGraw Hill; 2012. p. 696-715.
53. J. Ferlay, M. Ervik, F. Lam, M. Laversanne, M. Colombet, L. Mery, et al. *Global Cancer Observatory: Cancer Today.* Lyon, France2024 [Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>].
54. Houghton PJ. The Role of Plants in Traditional Medicine and Current Therapy. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine.* 1995;1(2):131-43.

55. Willimas DLH. Nitrosation Reactions and the Chemistry of Nitric Oxide: Elsevier; 2004.
56. Michael B. Smith, Jerry March. Oxidations and Reductions. March's Advanced Organic Chemistry 2006. p. 1703-869.
57. Ender Erdik. Karbonil Bileşiklerine Nükleofilik Katılma Reaksiyonları. Organik Reaksiyonlar 1: Organik Reaksiyonların Mekanizmaları 2011.
58. Solomons TWG, Fryhle CB, Snyder SA. Reactions of Aromatic Compounds. Organic Chemistry. 11th ed: Wiley; 2012.
59. Zubkov Fedor I, Nikitina Eugenia V, Kouznetsov Vladimir V, Duarte Luz Dary A. Experimental Evidence for Intramolecular ipso Substitution of Alkyl Groups. European Journal of Organic Chemistry. 2004;2004(24):5064-74.
60. Wang C, Chen W, Chen Y, Zhao X, Li J, Ren Q. Synthesis and properties of new fluorene-based polyimides containing trifluoromethyl and isopropyl substituents. Materials Chemistry and Physics. 2014;144(3):553-9.
61. Spaleck W, Kueber F, Winter A, Rohrmann J, Bachmann B, Antberg M, et al. The Influence of Aromatic Substituents on the Polymerization Behavior of Bridged Zirconocene Catalysts. Organometallics. 1994;13(3):954-63.
62. Abraham RJ, Reid M. ¹H chemical shifts in NMR. Part 18.1 Ring currents and π -electron effects in hetero-aromatics. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2. 2002(6):1081-91.
63. Charisiadis P, Kontogianni VG, Tsiafoulis CG, Tzakos AG, Siskos M, Gerothanassis IP. ¹H-NMR as a Structural and Analytical Tool of Intra- and Intermolecular Hydrogen Bonds of Phenol-Containing Natural Products and Model Compounds. Molecules [Internet]. 2014; 19(9):[13643-82 pp.].
64. Sasaki S. Handbook of Proton-NMR Spectra and Data: Academic Press; 1985.
65. Silverstein RM, Bassler GC. Spectrometric identification of organic compounds. Journal of Chemical Education. 1962;39(11):546.
66. Bakkar M, Monshi M, Warad I, Siddiqui M, Bahajaj A. ¹H ¹³C NMR investigation of E/ Z-isomerization around C N bond in the trans-alkene-Pt(II)imine complexes of some ketimines and aldimines. Journal of Saudi Chemical Society. 2010;14:165-74.
67. Vinsova J, Cermakova K, Tomeckova A, Ceckova M, Jampilek J, Cermak P, et al. Synthesis and antimicrobial evaluation of new 2-substituted 5,7-di-tert-butylbenzoxazoles. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2006;14(17):5850-65.
68. Mao Z., Zhou H., Sun G., Liu Z., Zhan X. Synthesis of 4-methoxy and 5-methoxy substituted 7-aza-isindolin-1-ones. Heterocycles. 2013;87(10):2071.
69. Mostafa GAE, Bakheit AH, Al-Agamy MH, Al-Salahi R, Ali EA, Alrabiah H. Synthesis of 4-Amino-N-[2 (diethylamino)Ethyl]Benzamide Tetraphenylborate Ion-Associate Complex: Characterization, Antibacterial and Computational Study. Molecules [Internet]. 2023; 28(5).
70. Mishra SK, Chaudhari SR, Lakshmipriya A, Pal I, Lokesh N, Suryaprakash N. Chapter Four - Novel Synthetic As Well As Natural Auxiliaries With a Blend of NMR

Methodological Developments for Chiral Analysis in Isotropic Media. In: Webb GA, editor. Annual Reports on NMR Spectroscopy. 91: Academic Press; 2017. p. 143-292.

71. Wongsap P, Phatikulrungsun P, Prathumthong S. FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions. Scientific Reports. 2022;12(1):6631.

72. Muslim R, Mahmood Saleh M, Saleh S. Synthesis and characterization of new sulphur six-membered heterocyclic compounds and evaluation their biological activity. AUS. 2019;26:129-35.

73. Smith B. Organic nitrogen compounds III: secondary and tertiary amines. 2019.

74. Area M, Garau A, Isaia F, Lippolis V. Assignments of Carbon-Sulphur Vibrations by Selenation: An FT-IR and FT-Raman Study on 1, 3, 5-Trithiacyclohexane. Spectroscopy Letters. 1996;29(4):697-709.

75. Smith B. Halogenated Organic Compounds. Spectroscopy. 2023:12-5,42.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı : Dicle

Soyadı : Şahin

Eğitim Bilgileri

2021 Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya (Lisans)

2024 Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İlaç Araştırma ve Geliştirme (Yüksek Lisans)

İş Deneyimi

2023-2024 Stajyer, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

2024- Kimyager, D'Decus Kozmetik ve Sanayi Limited Şirketi

Yayınları

4. Şahin, D., Kepekçi, R. A., Feizi-Dehnayebi, M., Akkoç, S., Cuevas-Vicario, J. V., Micale, N. "Biological Activities, DFT Calculations, and Molecular Docking Simulation of Thymol-Based Compounds". ChemistrySelect, 2024. DOI: 10.1002/slct.202304572

3. Başaran, E., Çakmak, R., Şahin, D., Köprü, S., Türkmenoğlu, B. and Akkoç, S. "Design, spectroscopic characterization, in silico and in vitro cytotoxic activity assessment of newly synthesized thymol Schiff base derivatives". Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2024. DOI: 10.1080/07391102.2024.2301747

2. Şahin, D., Kepekçi, R. A., Türkmenoğlu, B. and Akkoç, S. "Biological evaluation and computational studies of newly synthesized thymol-based Schiff bases as anticancer, antimicrobial, and antioxidant agents". Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2023. DOI: 10.1080/07391102.2024.2301747

1. Akkoç, S., Şahin, D., Muhammed, T. M., Yıldız, M. and İlhan, İ. Ö. "Synthesis, characterization, antiproliferative activity, docking, and molecular dynamics simulation of new 1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one derivatives". Journal of Biomolecular Structure & Dynamics, 2023. DOI: 10.1080/07391102.2023.2262