

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ FENİL KİNOLİNONLARIN SENTEZİ, SAFLAŞTIRILMASI,
KARAKTERİZE EDİLMESİ VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Hatice KOTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Lokman TORUN

Temmuz, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ FENİL KİNOLİNONLARIN SENTEZİ, SAFLAŞTIRILMASI,
KARAKTERİZE EDİLMESİ VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Hatice KOTAN tarafından hazırlanan tez çalışması 28.07.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Lokman TORUN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Lokman TORUN, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Melek EROL, Üye

TÜBİTAK MAM

Danışmanım Prof. Dr. Lokman TORUN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Yeni Fenil Kinolinonların Sentezi, Saflaştırılması, Karakterize Edilmesi ve Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Hatice KOTAN

İmza



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FYL-2021-4060 numaralı projesi kapsamında desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve çalışmalarım boyunca, öncelikle alan dışı olarak girdiğim bu bölümde tüm korku ve kaygılarımı yenerek bana cesaret veren, bütün bilgi birikim ve tecrübelerinden faydalanmamı sağlayan, karşılaştığım her zorlukta yardımlarını esirgemeyip destek olan ve en önemlisi bu alanda bir vizyon kazanmama vesile olduğu için saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Lokman TORUN'a sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimine başladığım ilk günden itibaren laboratuvar ortamında çalışmalarını gözlemleyerek tecrübe kazanmamı sağlayan ve tüm bilgi birikimini koşulsuz paylaşarak bana yol gösteren ve aynı zamanda yoldaş olan Simay OKTOR'a çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisansımın son döneminde Kartal Bilim Üssü Ar-Ge Laboratuvarının imkanlarından faydalanmama olanak sağladıkları ve çalışmalarımı tamamlamama vesile oldukları için değerli hocalarım Dr. Vedat GENÇ, Ersin ERTÜRK ve Pınar DÜNDAR'a çok teşekkür ederim.

Sentezlediğim bileşiklerin sitotoksik özelliklerinin incelenmesi için gerekli analizleri yapan, Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden Sayın Prof. Dr. Mehtap KUTLU 'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, bu günlere gelmemi sağlayan, hayatımın her anında bana sabırla destek olan, beni el üstünde tutan canım aileme ve attığım her adımda bana inanan ve her daim cesaretlendiren canım dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Hatice KOTAN

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xviii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	4
1.3 Hipotez	5
2 KİNOLİN VE KALKON BİLEŞİKLERİ	6
2.1 Kinolin Bileşikleri.....	6
2.2 Kinolin Bileşiklerinin Sentezleri.....	8
2.2.1 Friedländer Sentezi.....	8
2.2.2 Skraup Kinolin Sentezi.....	9
2.2.3 Combes Reaksiyonu.....	10
2.2.4 Dobner-Von Miller Reaksiyonu.....	10
2.2.5 Povarov Sentezi.....	11
2.2.6 Camps Kinolin Sentezi.....	11
2.2.7 β -Ketoesterlerin Anilin İle Reaksiyonu.....	12
2.2.8 Conrad-Limpach Sentezi.....	12
2.2.9 Knorr Kinolin Sentezi.....	13
2.2.10 Niementowski Kinolin Sentezi.....	14
2.3 Kinolinlerin Reaksiyonları.....	14
2.3.1 Elektrofilik Sübstitüsyon Reaksiyonları.....	14
2.3.1.1 Azot Atomuna Elektrofilik Katılma.....	15
2.3.1.2 Halojenleme.....	15
2.3.1.3 Nitrolama.....	16

2.3.1.4 Sülfolama.....	17
2.3.2 Nükleofilik Sübstitüsyon Reaksiyonları.....	17
2.3.3 Kinolinlerin İndirgenme Reaksiyonları.....	19
2.3.4 Kinolinlerin Yükseltgenme Reaksiyonları.....	20
2.4 Kalkon Bileşikleri.....	21
3 KANSER VE APOPTOZ.....	24
3.1 Kanser Oluşumu.....	24
3.1.1 Protoonkogenler Ve Onkogenler.....	26
3.1.2 Ras Geni Ve Ras Proteini.....	27
3.1.3 Tümör Baskılayıcı Genler.....	28
3.2 Apoptoz.....	30
4 SFİNGOLİPİTLER VE SERAMİDLER.....	32
4.1 Sfingolipit Yapısı Ve Metabolizması.....	32
4.2 Seramid Aktivasyonu.....	33
4.3 Sfingozin-1-Fosfat (S1P).....	35
4.4 Seramidaz.....	36
4.4.1 Seramidaz Enzim İnhibitörleri.....	37
4.4.1.1 Seranib-2.....	39
4.5 İn Vitro Sitotoksikite Testleri.....	39
4.5.1. MTT Kolorimetrik Sitotoksikite Testi.....	41
5 MATERYALLER.....	42
5.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	42
5.2 Kullanılan Cihazlar Ve Gereçler.....	43
6 DENEYSEL ÇALIŞMA.....	45
6.1 Sentez Şeması Ve Karakterizasyon.....	45
6.1.1 3-Asetil-4-fenilkinolin-2-on Bileşiğinin (Bileşik-1) Sentezi Ve Karakterizasyonu ($C_{17}H_{13}NO_2$; 263,296g/mol).....	47
6.1.1.1 Bileşik 1'in Spektral Verileri.....	48
6.1.2 3-[(2E)-3-(Naftalin-1-il)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on Bileşiğinin (Bileşik 2) Sentezi ($C_{28}H_{19}NO_2$; 401,455g/mol).....	51
6.1.2.1 Bileşik 2'nin Spektral Verileri.....	52

6.1.3 3-[(2E)-3-(Naftalin-1-il)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 3) Sentezi ($C_{28}H_{19}NO_2$; 401,455g/mol).....	57
6.1.3.1 Bileşik 3'ün Spektral Verileri.....	58
6.1.4 3-[(2E)-3-(2-Metoksifenil)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 4) Sentezi ($C_{25}H_{19}NO_3$; 381,423g/mol).....	63
6.1.4.1 Bileşik 4'ün Spektral Verileri.....	64
6.1.5 3-[(2E)-3-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioksin-6-il)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 5) Sentezi ($C_{26}H_{19}NO_4$; 409,433g/mol).....	69
6.1.5.1 Bileşik 5'in Spektral Verileri.....	70
6.1.6 4-Fenil-3-[(2E)-3-(kinolin-3-il)prop-2-enol]kinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 6) Sentezi ($C_{27}H_{18}N_2O_2$; 402,444g/mol).....	74
6.1.6.1 Bileşik 6'nın Spektral Verileri.....	75
6.1.7 3-(3-(1-Metil-1H-pirol-2-il)akriloil)-4-fenilkinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 7) Sentezi ($C_{27}H_{20}N_2O_2$; 404,459g/mol).....	79
6.1.7.1 Bileşik 7'nin Spektral Verileri.....	80
6.1.8 3-[(2E)-3-Fenil boronik asit]prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on	
Bileşığının (Bileşik 8) Sentezi ($C_{24}H_{18}BNO_4$; 395,215g/mol).....	84
6.1.8.1 Bileşik 8'in Spektral Verileri.....	85
6.1.9 2-Aminofenil (naftalin-2-il) metanon (Bileşik 9) Sentezi Ve	
Karakterizasyonu ($C_{17}H_{13}NO$; 247,291g/mol).....	90
6.1.9.1 Bileşik 9'un Spektral Verileri.....	91
6.1.10 3-Asetil-4-(naftalin-2-il) kinolin-2(1H)-on (Bileşik 10) Sentezi Ve	
Karakterizasyonu ($C_{21}H_{15}NO_2$; 313,349 g/mol).....	97
6.1.10.1 Bileşik 10'un Spektral Verileri.....	98
6.1.11 (E)-4-(Naftalin -2-il)-3-(3-(naftalin-2-il)-akriloil) kinolin-2(1H)-on	
(Bileşik 11) Sentezi Ve Karakterizasyonu.....	103
6.1.11.1 Bileşik 11'in Spektral Verileri.....	104
7 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	107
7.1 Yeni Fenil Kinolinon Bileşiklerinin Sentezleri.....	107
7.2 Sentezlenen Bileşiklerin Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi.....	115

KAYNAKÇA.....	120
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR.....	130



SİMGE LİSTESİ

m	Metre
cm	Santimetre
mg	Miligram
g	Gram
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
Å	Angstrom
°C	Santigrat derece
δ	Kimyasal kayma
m-	Meta
o-	Orto
p-	Para
M	Molar

KISALTMA LİSTESİ

Ar	Argon
Atm	Atmosfer
CDCl ₃	Dötero Kloroform
CHCl ₃	Kloroform
¹³ C NMR	Karbon 13 Nükleer Manyetik Rezonans
¹ H NMR	Proton Nükleer Manyetik Rezonans
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik asit
GC/MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
S1P	Sfingosin-1-fosfat
C1P	Seramid-1 fosfat
QTOF	Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
THF	Tetrahidrofuran
NaOH	Sodyum hidroksit
EtOH	Etil Alkol
MeOH	Metil Alkol
EA/H	Etil Asetat/Hekzan
Eq.	Ekivalent
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetilsülfoksit

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Seranib-2'nin Sentez Aşamaları.....	3
Şekil 2.1 Kinolin Ve İzokinolin Yapısı.....	6
Şekil 2.2 Kinin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı.....	6
Şekil 2.3 İlaç Sektöründe Kullanılan Bazı Kinolin Türevleri.....	7
Şekil 2.4 Friedländer Kinolin Sentezi.....	8
Şekil 2.5 Skraup Sentezi İle Kinolin Eldesi.....	9
Şekil 2.6 Combes Sentezi Yoluyla Kinolin Eldesi.....	10
Şekil 2.7 Dobner-Von Miller Sentezi ile Kinolin Eldesi.....	10
Şekil 2.8 Povarov Sentezi İle Kinolin Eldesi.....	11
Şekil 2.9 Camps Kinolin Sentezi.....	11
Şekil 2.10 β -Ketoesterlerin Anilin İle Reaksiyonu.....	12
Şekil 2.11 Conrad-Limpach Kinolin Sentezi.....	13
Şekil 2.12 Knorr Kinolin Sentezi.....	13
Şekil 2.13 Niementowski Kinolin Sentezi Mekanizması.....	14
Şekil 2.14 Kinolinin Azot Atomuna Elektrofilik Katılması.....	15
Şekil 2.15 Kinolinlerin Halojenasyonu.....	16
Şekil 2.16 Kinolinlerin Nitrolanması.....	16
Şekil 2.17 Kinolinlerin Sülfolanması.....	17
Şekil 2.18 Kinolin'in Çift Bağ Dağılımı Ve Rezonans Halleri.....	17
Şekil 2.19 Kinolinin Hidroksillenme Reaksiyonu.....	18
Şekil 2.20 Kinolinin Amit Anyonu İle Reaksiyonu.....	18
Şekil 2.21 Kinoline Organolityum Reaktiflerinin Katılması.....	19
Şekil 2.22 Kinolinin İndirgenmesi.....	19
Şekil 2.23 Yüksek indirgen Koşullar Altında Kinolinin İndirgenmesi.....	19
Şekil 2.24 Kinolinin Yükseltgenmesi.....	20
Şekil 2.25 İzokinolinin Yükseltgenmesi.....	20
Şekil 2.26 Kalkon Yapısı Ve Gösterimi.....	21
Şekil 2.27 Claisen-Schmidt Kondenzasyonu İle Kalkon Eldesi.....	22

Şekil 2.28 Çeşitli Farmakolojik Aktivitelere Sahip Kalkon Yapıları.....	23
Şekil 3.1 Kanser Oluşumu.....	25
Şekil 3.2 Ras Proteini Aktivasyonu Ve İnaktivasyonu.....	27
Şekil 3.3 Hücre Döngüsü Ve Tümör Oluşumu.....	29
Şekil 4.1 Sfingolipit Metabolizması.....	33
Şekil 4.2 Seramid Ve S1P arasındaki denge.....	35
Şekil 4.3 Birinci Nesil Seçilmiş Seramidaz Enzim İnhibitörleri.....	38
Şekil 4.4 İkinci Nesil Seçilmiş Seramidaz Enzim İnhibitörleri.....	39
Şekil 4.5 Sarı Tetrazolium Tuzunun Mor Renkli Formazana İndirgenmesi.....	41
Şekil 6.1 Yeni Fenil Kinolinonların Sentez Şeması.....	45
Şekil 6.2 Bileşik 1'in FTIR Spektrumu.....	48
Şekil 6.3 Bileşik 1'in ¹ H NMR Spektrumu.....	50
Şekil 6.4 Bileşik 1'in ¹³ C NMR Spektrumu.....	50
Şekil 6.5 Bileşik 2'nin Molekül Yapısı.....	52
Şekil 6.6 Bileşik 2' nin FTIR Spektrumu.....	53
Şekil 6.7 Bileşik 2'nin ¹ H NMR Spektrumu.....	54
Şekil 6.8 Bileşik 2'nin ¹³ C NMR Spektrumu.....	55
Şekil 6.9 Bileşik 2' nin UV Spektrumu.....	56
Şekil 6.10 Bileşik 2'nin LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	56
Şekil 6.11 Bileşik 3'ün Molekül Yapısı.....	58
Şekil 6.12 Bileşik 3'ün FTIR Spektrumu.....	59
Şekil 6.13 Bileşik-3'ün ¹ H NMR Spektrumu.....	60
Şekil 6.14 Bileşik-3'ün ¹³ C NMR Spektrumu.....	61
Şekil 6.15 Bileşik 3'ün LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	62
Şekil 6.16 Bileşik 3'ün UV Spektrumu.....	62
Şekil 6.17 Bileşik 4'ün Molekül Yapısı.....	64
Şekil 6.18 Bileşik 4'ün FTIR Spektrumu.....	65
Şekil 6.19 Bileşik 4'ün ¹ H NMR Spektrumu.....	66
Şekil 6.20 Bileşik 4'ün ¹³ C NMR Spektrumu.....	67
Şekil 6.21 Bileşik 4'ün UV Spektrumu.....	68
Şekil 6.22 Bileşik 4'ün LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	68

Şekil 6.23 Bileşik 5'in Molekül Yapısı.....	70
Şekil 6.24 Bileşik 5'in UV Spektrumu.....	70
Şekil 6.25 Bileşik 5'in ^1H NMR Spektrumu.....	71
Şekil 6.26 Bileşik 5'in ^{13}C NMR Spektrumu.....	72
Şekil 6.27 Bileşik 5'in LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	73
Şekil 6.28 Bileşik 6'nın Molekül Yapısı.....	75
Şekil 6.29 Bileşik 6'nın FTIR Spektrumu.....	76
Şekil 6.30 Bileşik 6'nın ^1H NMR Spektrumu.....	77
Şekil 6.31 Bileşik 6'nın ^{13}C NMR Spektrumu.....	78
Şekil 6.32 Bileşik 7'nin Molekül Yapısı.....	80
Şekil 6.33 Bileşik 7'nin FTIR Spektrumu.....	81
Şekil 6.34 Bileşik 7'nin ^1H NMR Spektrumu.....	82
Şekil 6.35 Bileşik 7'nin ^{13}C NMR Spektrumu.....	83
Şekil 6.36 Bileşik 8'in Molekül Yapısı.....	85
Şekil 6.37 Bileşik 8'in FTIR Spektrumu.....	86
Şekil 6.38 Bileşik 8'in ^1H NMR Spektrumu.....	87
Şekil 6.39 Bileşik 8'in ^{13}C NMR Spektrumu.....	88
Şekil 6.40 Bileşik 8'in LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	89
Şekil 6.41 Bileşik 9'un Molekül Yapısı.....	91
Şekil 6.42 Bileşik 9'un FTIR Spektrumu.....	92
Şekil 6.43 2-Aminobenzofenon FTIR Spektrumu.....	93
Şekil 6.44 Bileşik 9'un ^1H NMR Spektrumu.....	94
Şekil 6.45 Bileşik 9'un ^{13}C NMR Spektrumu.....	95
Şekil 6.46 Bileşik 9'un LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	96
Şekil 6.47 Bileşik 10'un molekül yapısı.....	98
Şekil 6.48 Bileşik 10'un FTIR Spektrumu.....	99
Şekil 6.49 Bileşik 10'un ^{13}C NMR Spektrumu.....	100
Şekil 6.50 Bileşik 10'un ^1H NMR Spektrumu.....	101
Şekil 6.51 Bileşik 10'un LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu.....	102
Şekil 6.52 Bileşik 11'in Molekül Yapısı.....	104
Şekil 6.53 Bileşik 11'in ^{13}C NMR Spektrumu.....	105

Şekil 6.54 Bileşik 11'in ^1H NMR Spektrumu.....	106
Şekil 7.1 MTT Testinin Uygulama Metodu.....	115
Şekil 7.2 Çeşitli konsantrasyonlardaki bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı.....	116
Şekil 7.3 Çeşitli konsantrasyonlardaki bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı.....	117



TABLO LİSTESİ

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler, firmalar ve Cas numaraları.....	42
Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler, firmalar ve Cas numaraları (devamı)....	43
Tablo 7.1 Çeşitli konsantrasyonlardaki ($\mu\text{g}/\text{ml}$) bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı.....	116
Tablo 7.2 24 saat sonunda bileşiklerin IC_{50} değerleri.....	117
Tablo 7.2 24 saat sonunda bileşiklerin IC_{50} değerleri (devamı).....	118



YENİ FENİL KİNOLİNONLARIN SENTEZİ SAFLAŞTIRILMASI, KARAKTERİZE EDİLMESİ VE SİTOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Hatice KOTAN

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Lokman TORUN

Kanser, büyüme ve farklılaşmayı sağlayan hücresel mekanizmalar üzerindeki merkezi kontrolün kaybolması sebebiyle değişime uğrayan bir hücrenin kontrolsüz çoğalması sonucu ortaya çıkan hastalık türüdür. İnsan dokusu üzerinde kontrolsüz hücre çoğalmasına sebep olan yolakların aktive olması ve apoptotik yolla ölmesi gereken hücrelerin ölümlerinin engellenmesi kansere sebep olmaktadır. Bu süreçte en etken rol oynayan hücre içi ve hücre dışı sinyal yolaklarını uyaran veya baskılayan sfingolipit mekanizmasının hücre hasarı ve hücre ölüm olaylarında önemli görevler üstlendikleri tespit edilmiştir. Sfingolipidlerden oluşan ve hücrelerde ikinci haberci olarak davranış gösteren seramid, seramid-1 fosfat, sfingozin ve sfingozin-1 fosfatın hücre döngüsü, apoptoz ve inflamasyon üzerinde etkisi büyük önem arz etmektedir. Bu türler arasındaki dengenin bozulması

kanserin ilerlemesine veya baskılanmasına sebep olmaktadır. Hücre içerisindeki bu dengenin korunmasında seramidaz enzim düzeyi çok önemlidir. Akciğer, meme, prostat kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde seramidaz enziminin aşırı biriktiği tespit edilmiştir. Bu nedenle seramidaz enzim aktivitesinin baskılanmasının kanser tedavisi için önemli olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada, seramidaz enzim baskılayıcısı olarak kinolin ve kalkon hibrit bileşikler oluşturulmuş ve oluşan bu hibrit kinolinon bileşiklerinin, insan kanser hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri incelenerek antikanser ilaç tedavilerinde potansiyel yeni asit seramidaz inhibitörleri olarak keşfedilmesi hedeflenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları, klasik spektroskopik yöntemler (FTIR, ¹H NMR, ¹³C NMR, QTOF-LC/MS) kullanılarak karakterize edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, apoptozis, seramid, seramidaz, S1P, seranib-2, kinolinon

SYNTHESIS, PURIFICATION, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF CYTOTOXIC PROPERTIES OF NEW PHENYL QUINOLINONES

Hatice KOTAN

Department of Chemistry

MSc Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Lokman TORUN

Cancer is a type of disease that occurs as a result of the uncontrolled proliferation of a cell that has undergone a change due to the loss of central control over the cellular mechanisms that provide growth and differentiation. Activating the pathways that cause uncontrolled cell proliferation on human tissue and preventing the death of cells that should die by apoptotic way cause cancer. It has been determined that the sphingolipid mechanism, which stimulates or suppresses the intracellular and extracellular signal pathways, which play the most active role in this process, plays an important role in cell damage and cell death events. The effects of ceramide, ceramide-1 phosphate, sphingosine and sphingosine-1 phosphate, which are composed of sphingolipids and act as second messengers in cells, on cell cycle, apoptosis and inflammation are of great importance. Disruption of the balance between these species causes the progression or suppression of cancer. The level of ceramidase enzyme is very important in maintaining this balance in the cell. It has been determined that ceramidase enzyme accumulates excessively in various

cancer types such as lung, breast, prostate cancer. Therefore, suppression of ceramidase enzyme activity is thought to be important for cancer treatment.

In this study, quinoline and chalcone hybrid compounds were formed as ceramidase enzyme suppressors and it was aimed to discover these hybrid quinolinone compounds as potential new acid ceramidase inhibitors in anticancer drug treatments by examining their cytotoxic effects in human cancer cell lines. The structures of the synthesized compounds were characterized using classical spectroscopic methods (FTIR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, QTOF-LC/MS).

Keywords: Cancer, apoptosis, ceramide, ceramidase, S1P, seranib-2, quinolinone



1.1 Literatür Özeti

Kanser, alt ve nadir gözüken türleri ile sayısı 1000'i bulan, kompleks ve çok sebepli bir hastalık grubudur ve böylesine bir hastalığı tek bir ilaç veya tek bir yöntemle tedavi etmenin çoğu zaman mümkün olmadığı anlaşılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalar kanserin oluşumu ve gelişimi üzerine biyokimyasal ve moleküler düzeyde yeni yaklaşımlar kazandırmıştır. Kanser, uzun süreli ve çok basamaklı aşamaları olan genotipik ve fenotipik bir süreçtir. Bu süreçte gerçekleşen hücre bölünmesi ve çoğalmasından sorumlu olan biyokimyasal mekanizmalar, proteinler veya genler moleküler düzeyde araştırılarak kanser morfolojisi aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Tüm dünyada kanser tedavisi için yeni alternatif yollar veya varolan tedavi yollarını destekleyici yeni yöntemlerin arayışları devam etmektedir. Kanser tedavilerinde hedef alınan temel özellik; kanser hücrelerinin normal büyüme ve farklılaşmayı sağlayan mekanizmalar üzerindeki kontrolünü kaybetmesidir [137]. Kanser hücreleri bunu apoptoz adı verilen hücrel bir strateji ile hücrelere gönderdiği sinyal yollarını engelleyerek yaparlar. Apoptoz ise hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasındaki dinamik dengeyi belirleyen hücrel bir strateji olduğu için bu dengedeki bozukluklar otoimmün ve nörodejeneratif hastalıkların ve kanserin gelişimine zemin hazırlar [138]. Kanser hücreleri kontrolsüz ve yüksek bir proliferasyon hızına sahip olduklarından dolayı, yeni oluşturdukları membranların yapıtaşları olarak lipitlere ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle lipidlerin, kanserin progresyonundaki rolü üzerine çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

Son zamanlarda yapılmış olan sfingolipid metabolizması ve işleviyle ilgili biyokimyasal ve moleküler çalışmalarda, sfingolipit metabolitlerinin agonist aracılı sinyalleşme ve düzenlenmelerde, inflamasyon, hücre proliferasyonu, apoptoz, anjiyogenez ve transformasyon dahil olmak üzere birçok hücrel süreç üzerinde etkili moleküller olarak işlev gördüğü kanıtlanmıştır [77,78]. Bu metabolitler; hücrelerin yapısal korunumunda ve hücre zarının bariyer

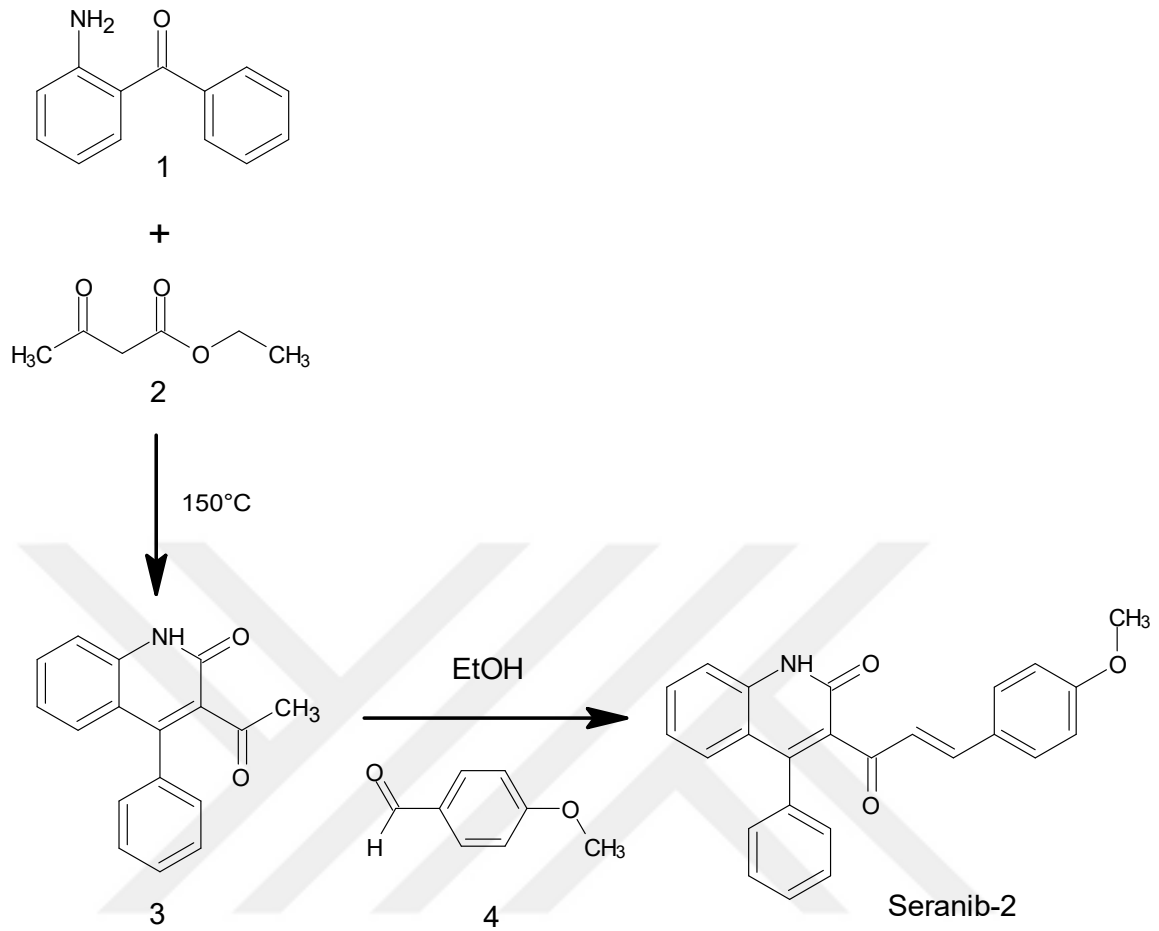
fonksiyonunda görev alırlar ve bu sayede büyüme, farklılaşma, apoptoz ve otofaji gibi direkt olarak karsinogenezde rol aldığı bilinen birçok hücrel fonksiyonu etkileyebilirler [139-141].

Sfingolipit metaboliti olarak bilinen seramid, sfingozin ve sfingozin-1-fosfat gibi bazı biyoaktif sfingolipid türleri sfingolipit mekanizması için merkezi rol oynamaktadır. Seramidler, sfingolipitlerin oluşması için öncül görev üstlenen ve aynı zamanda canlı hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu; bazı tümör hücrelerinde hücre bölünmesini inhibe eden ve apoptozun uyarılmasında rol oynayan sinyal molekülleridir. Seramid ve sfingozin; apoptoza, hücre bölünmesini inhibe etmeye ve farklılaşmaya aracılık ederken, S1P apoptozun proliferasyonunu, hayatta kalmasını ve inhibisyonunu teşvik eder [99].

Sfingolipidlerin birbirine dönüşümünün mekanizmaları ve etkileri, giderek artan bilimsel araştırmaların konusu olmuştur. Son on yılda, sfingolipit deregölasyonu, yani proapoptotik molekül seramid ile anti-apoptotik sfingolipit sfingosin1-fosfat arasındaki denge, kanser patolojisinde ve tedaviye dirençte önemli bir faktör olarak ortaya çıkmıştır. Bu nedenle araştırmamız, tam olarak seramid düzeylerini arttırarak ve sfingosin-1-fosfatı azaltarak normal sfingolipid dengesini geri yükleyebilen ilaçlar geliştirmeye odaklanmıştır.

Seramidazlar, sfingosin üretmek için seramidi hidrolize ederek hücredeki düzeyini azaltan anahtar enzimlerdir ve ayrıca ilaçlara ve radyasyona direnç kazandırabilirler. Seramidazların inaktive edilmesi hücredeki seramid seviyesinin korunması ve arttırılması açısından çok önemlidir. Bu nedenle, seramidaz inhibitörleri, yeni antikanser ilaçları olarak potansiyel bir araştırma konusudur. Son yirmi yılda, birinci nesil inhibitörler olarak bilinen seramidlerin yapısal ve stereokimyasal modifikasyonlarına dayanarak bir dizi seramidaz inhibitörü geliştirilmiştir. Seramidazın ilk seramid taklit inhibitörü N-Oleoyl thanolamid (NOE)'dir. Bu bileşik, seramidin endojen hücrel seviyelerini arttırır ve farklı hücre hatlarında apoptozu indüklemektedir [100,115].

Seranib-2, seramidaz enzimini inhibe ederek apoptozu tetikleyen bir enzim inhibitörüdür. Böylece seramidaz aktivitesi sonucunda oluşan sfingozin seviyesini azaltarak, hücre içindeki seramid miktarının azalmasını engeller [142,143].



Şekil 1.1 Seranib-2'nin Sentez Aşamaları [145]

Şekil 1.1'de; küçük bir molekül kütüphanesi taranarak bulunmuş yeni bir seramidaz inhibitörünün (Seranib-1) daha güçlü bir analogu (Seranib-2) iki basamaklı bir reaksiyon sonunda sentezlenmiştir [143]. Birinci basamakta o-aminobenzofenon (1) ile etilaseto asetatın (2) reaksiyonu sonucu 3-asetil-4-fenilkinolin-2-on (3) sentezlenir. İkinci basamakta ise 3-asetil-4-fenilkinolin-2-on (3) ve 4-metoksibenzaldehit (4) arasında aldol kondenzasyonu reaksiyonu gerçekleşerek Seranib-2 sentezlenmiştir.

Hücre bazlı yapılan bu tahlilde, her iki bileşiğin de bir ekzojen seramid analoguna karşı hücresel seramidaz aktivitesini inhibe ettiği, çoklu seramid türlerinin birikmesini indüklediği, sfingosin ve S1P seviyelerini düşürdüğü, tek başına ve paklitaksel ile kombinasyon halinde hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği ve

hücre döngüsü durmasına ve hücre ölümüne neden olduğu keşfedilmiştir. Bu veriler, antikanser ilaç gelişimi için uygun hedefler olarak seramidazların seçimini destekler ve insan seramidaz aktivitesinin ilk lipit olmayan inhibitörlerini sağlamaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Günümüzde insan sağlığını tehdit eden en ciddi hastalıkların başında kanser gelmektedir. Dünya çapında en yaygın ölüm nedenleri arasında da yine kanser sebep olarak gösterilmektedir. Kansere bağlı ölümlerdeki artış oranları, kanserin tanı ve tedavisini güçlendirecek çalışmalara ne kadar ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Kanser tedavilerinde temel olarak kemoterapi, radyoterapi, cerrahi tedavi ve hormon tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Günümüzde kanser tedavisi denilince ilk akla gelen yöntem olan kemoterapi, kanseri doğrudan iyileştirmek amaçlı kullanılan ilaç veya ilaçlardır. Kullanılan bu tedavi yöntemlerinin hedefi, hızlı büyüyen ve çoğalan kanser hücrelerini yok etmek veya hücrelerin büyümesini kontrol altına almaktır. Ne yazık ki bu tedavi yöntemlerinde kullanılan kemoterapötik ajanların, süreç içerisinde kansere karşı etkili olmakla birlikte; yan etkileri ve ilaçlara karşı hastaların bağışıklık sisteminde direnç gelişimi gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bu sebeple; kemoterapik ilaçların kanser tedavisi üzerindeki seçicilikleri azalmakta ve tedaviyi sınırlandırıp daha geniş bir zamanda etki göstermektedir. Kanser tedavisindeki bu sınırlandırmayı ortadan kaldıracak yeni sitotoksik ilaçların keşfedilmesi için farmasötik alanlarda araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Günümüzde kullanılan kemoterapik ilaçların kanser tedavisi için yetersiz kalması, toksik etkilerinin fazla, seçiciliklerinin az olması, bilim insanlarını daha etkili ilaç adaylarını geliştirme noktasında sürekli teşvik etmektedir. Bu çalışmada ise Seranib-2 türevlerinden yola çıkarak, sudaki çözünürlüğünü arttırmayı hedeflediğimiz biyoyararlanımı ve biyoaktivitesi daha yüksek yeni ilaç etken maddelerinin keşfedilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda antikanser etki gösterdiği keşfedilen Seranib-2 türevleri olan yeni fenil kinolinon molekülleri sentezlenerek karakterize edilmiş ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR, FTIR ve QTOF-LC/MS metodları ile

aydınlatılmış ve sitotoksik özellikleri Eskişehir Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından incelenmiştir. Elde edilen bulgular sonuç ve tartışma kısmında belirtilmiştir.

1.3 Hipotez

Malign hücrelerde apoptozun mekanizmaları ve tümör üzerine etkileri fizyolojik olarak araştırılmaktadır. Bu araştırmalar neticesinde kanser tedavisi için keşfedilen en önemli bulgular, apoptotik yolla ölmesi gereken hücrelerin bu yolunu engelleyen hücre içi ve hücre dışı sinyal yollarını uyarıp baskılayacak yeni stratejik yaklaşımlardır. Bu yaklaşımlar üzerinden yola çıkarak; hücre içi ve hücre dışı sinyal yollarını uyaran ve baskılayan sfingolipit mekanizmasının, hücre hasarı ve hücre ölüm olaylarında önemli görevler üstlendiği tespit edilmiştir.

Sfingolipidlerden oluşan ve hücrelerde ikinci haberci olarak davranış gösteren seramid, seramid-1 fosfat (C1P), sfingozin ve sfingozin-1 fosfatın (S1P) hücre döngüsü, apoptoz ve inflamasyon üzerinde etkisi büyük önem taşımaktadır. Bu türler arasındaki dengenin bozulması kanserin ilerlemesine veya baskılanmasına sebep olmaktadır. Hücre içerisindeki bu dengenin korunmasında seramidaz enzim düzeyi çok önemlidir. Akciğer, meme, prostat kanseri gibi çeşitli kanser hücre türlerinde seramidaz enziminin aşırı biriktiği tespit edilmiştir. Bu nedenle seramidaz enzim aktivitesinin baskılanmasının kanser tedavisi için önemli olduğu düşünülmektedir. 2011 yılında Draper ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada, apoptozu uyarmak amacıyla seramidaz enzim inhibitörü olan seranib-2 sentezlenerek sitotoksik özellik gösterdiği ispatlanmış fakat sudaki çözünürlüğü az olduğu için farmakolojik olarak kullanımı sınırlandırılmıştır. Draper

Heteroaril gruplarının biyoaktif olmalarından dolayı sentezlenen ilaç adaylarının biyoaktivitelerinin istenildiği şekilde yüksek çıkması beklenilmektedir.

KİNOLİN VE KALKON BİLEŞİKLERİ

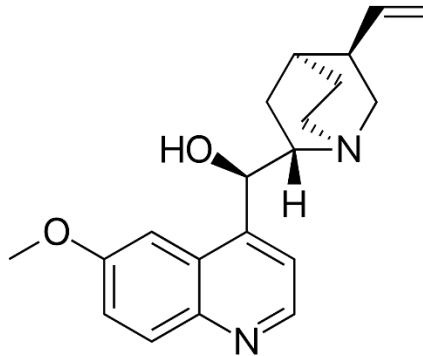
2.1 Kinolin Bileşikleri

Kinolin ve yapısal izomeri olan izokinolin halkası (Şekil 1), C_9H_7N molekül formülüne sahip; bir benzen ve piridin halkasının kaynaşarak oluşturduğu heterohalkalı bileşik sınıfının önemli bir üyesidir. Bu yapısından dolayı benzopiridinler veya azanaftalinler olarak da adlandırılabilir [1].



Şekil 2.1 Kinolin ve İzokinolin Yapısı

Kinolin türevleri, geniş bir biyoaktivite yelpazesine sahip önemli azot bazlı heterosiklik aromatik bileşikler olmalarından dolayı son 200 yıldır araştırmacıların ilgi odağı olmayı başarmıştır [2]. Alkaloidler, bazik azot atomu içeren ve bitkilerin doğal yapılarından elde edilen maddelerdir ve yapıları oldukça komplekstir. Farmakolojik özellikleri bakımından etkindir [3]. Kinolin yapısını içeren ve bilinen en önemli alkaloid, kına kına ağacının kabuğundan elde edilen ve sıtma tedavisinde kullanılan bir alkaloid olan kinin bileşiğidir [4]. Kinin ekstraktı, 1820'li yılların ortalarında ekstrakte edilerek günümüze kadar süregelen milyonlarca sıtma vakası için kullanılmıştır (Şekil 2.2) [5].

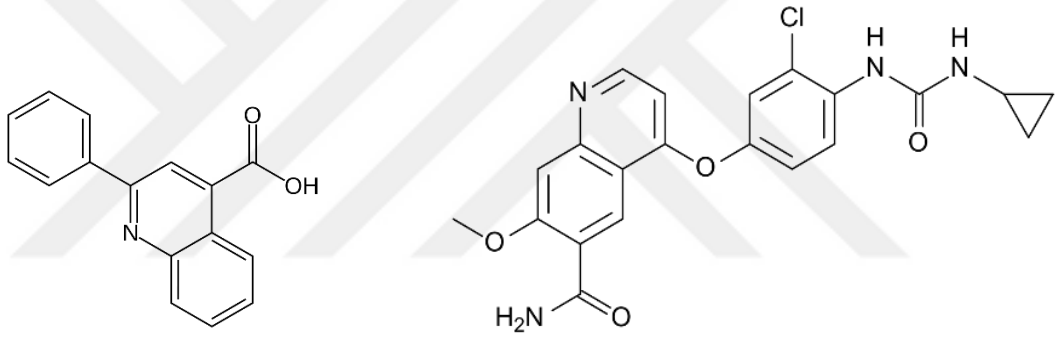


Şekil 2.2 Kinin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı

Kinin alkaloidinin keşfinden sonra kinolin, 1834 yılında Alman kimyager Friedlieb Ferdinand Runge tarafından, renksiz ve higroskopik (nem çeken) bir sıvı olarak izole edilmiş ve daha sonra ilk kez 1897 yılında Gabriel S. Gabriel tarafından kömür katranından sentezi gerçekleştirilmiştir [6].

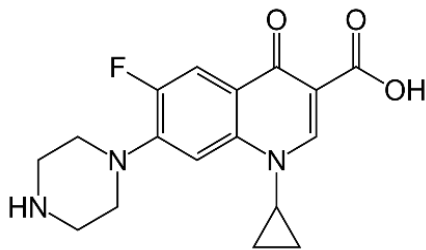
Yapılan araştırmalara göre kinolin türevlerinin antisıtma özelliklerinin yanı sıra antikanser [7], antitümör [8], antibakteriyel, antimikrobiyal, antiparazitik [9], antiverem [10], antiastım [11], antiviral etkileri ile beraber çeşitli sitotoksik özellikleri keşfedilmiştir [12].

Tıp, eczacılık, sentetik ve organik kimya gibi sağlık, ilaç ve Ar-Ge sektöründe yaygın olarak kullanılan kinolin türevleri endüstri sektöründe de oldukça yer kaplamaktadır. Kinolin sarısı olarak türevi de olan boyar maddelerin yapısında kinolin analogları kullanılmaktadır [12,13].

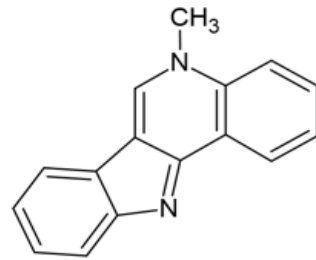


Atophan (Romatizma İlacı)

Lenvatinib (Antikanser ilacı)



Ciproflaxicin (Antibiyotik)



Antimalaryal (Antisıtma)

Şekil 2.3 İlaç Sektöründe Kullanılan Bazı Kinolin Türevleri [13].

Günümüze kadar 200'den fazla biyolojik olarak aktif kinolin alkaloidleri tanımlanmış ve günümüzde de doğadan izolasyonu ve laboratuvar ortamındaki çalışmaları devam ettirilerek farmakolojik özellikleri üzerinde incelemeye devam edilmektedir [14].

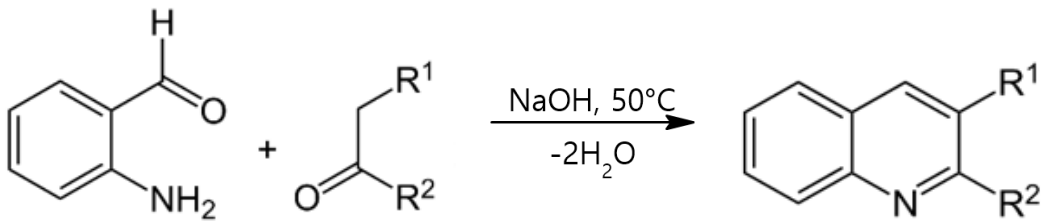
2.2 Kinolin Bileşiklerinin Sentezleri

Kinolinler, heterohalkalı bileşikler sınıfının önemli bir kısmını oluşturdıkları için sentezi de keşfiyle beraber büyük önem arz etmeye başlamıştır. Çeşitli klasik kinolin sentez metodları bilinmektedir. Bu metodlardan Friedländer Sentezi [15], Skraup Sentezi [16], Combes reaksiyonu, Doebner-Miller von [17], Pfitzinger Sentezi [18], günümüzde en çok bilinen sentez metodlarıdır.

Kinolinler genellikle çıkış bileşiği olarak anilin halkasının kullanıldığı metodlar ile sentezlenmektedir. Bu yöntemler ile beraber sentezlendikten sonra, bir fonksiyonel grup olarak kullanılarak çeşitli analoglarına dönüştürülerek farmasötik bileşikler veya ilaç etken maddeleri olarak kullanılmaktadır [19].

2.2.1 Friedländer Sentezi

Friedländer Sentezi, kinolin sentezi için bilinen en kolay ve yaygın yöntemlerden biridir. Alman kimyager Paul Friedländer tarafından 1882 yılında 2-aminobenzaldehitin ketonlar ile reaksiyonu gerçekleştirilerek keşfedilmiştir [20]. Reaksiyon trifloroasetik asit, tolüensülfonik asit, iyot ve Lewis asitleri ile katelizlenerek gerçekleştirilir.



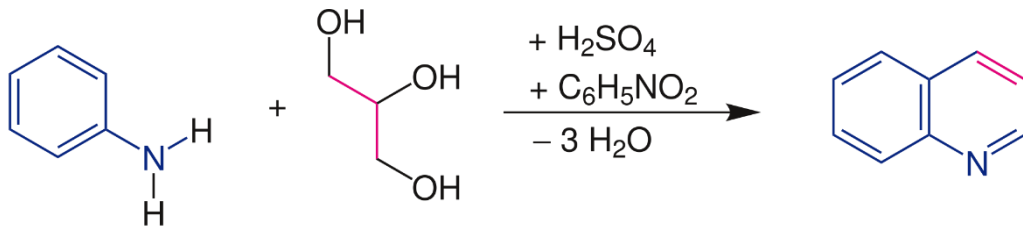
Şekil 2.4 Friedländer Kinolin Sentezi

2.2.2 Skraup Kinolin Sentezi

Kinolin, bir anilin, gliserol ve konsantre sülfürik asit karışımının uygun bir oksitleyici ajan ile ısıtıldığı *Skraup sentezi* yöntemiyle kolayca elde edilebilir. Bu yöntem Çek kimyacı Zdenko Hans Skraup tarafından 1880 yılında keşfedilmiş en eski yöntemlerden biridir [16, 21].

Genel prosödüre göre oksidan (yükseltgeyici ajan) olarak nitrobenzen kullanılır ancak bu genellikle şiddetli bir reaksiyona yol açtığı için arsenik pentoksit (As_2O_5) veya iyot tercih edilmektedir [22]. Reaksiyonun daha hızlı gerçekleşmesi için demir sülfat kullanımı da oldukça yaygındır.

Reaksiyonda öncelikle akrolein vermek üzere derişik sülfürik asit aracılığıyla gliserolün dehidrasyonu gerçekleşir. Daha sonra anilinin akroleine nükleofilik katılması ile beraber propiyonaldehit oluşur. Oluşan yapıdaki benzen çekirdeği üzerindeki protonlanmış aldehit grubu tarafından eş zamanlı siklizasyon oluşturarak molekül içi elektrofilik saldırı gerçekleştirir. Son olarak mevcut nitrobenzen indirgenerek bu şekilde elde edilen hidroaromatik sistemi aromatize ederek kinolin halkasına dönüştürür [23].

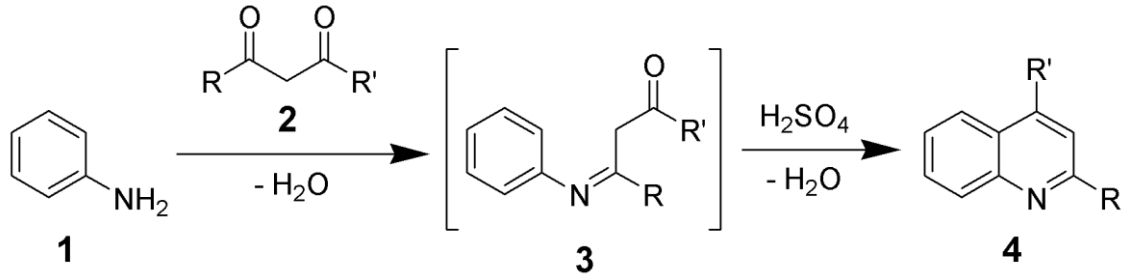


Şekil 2.5 Skraup Sentezi ile Kinolin Eldesi.

Skraup sentezinde, anilin yerine o-amino fenol başlangıç maddesi olarak kullanılırsa, akrolein ile beraber 8- hidroksi kinolin elde edilir. Bu madde antiseptik olarak kullanılmakla beraber aynı zamanda analitik kimya alanında 'oksin' adıyla da reaktif olarak kullanılmaktadır.

2.2.3 Combes Reaksiyonu

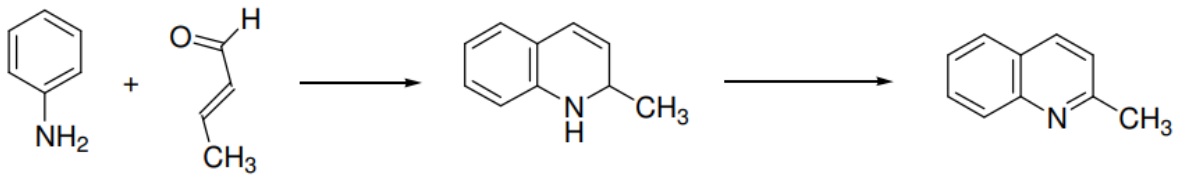
Combes kinolin sentezi, ilk olarak 1888'de Combes tarafından bildirilen bir kimyasal reaksiyon çeşididir [24]. Combes sentezinde, anilin, bir Schiff bazı oluşturmak için asit varlığında bir 1,3-diketon ile reaksiyona girer. Daha sonra, Şekil 2.6'da gösterildiği gibi, kinolin türevini oluşturmak için bir ara ürün yoluyla siklodehidrasyon gerçekleşir [25].



Şekil 2.6 Combes Sentezi Yoluyla Kinolin Eldesi

2.2.4 Dobner-Von Miller Reaksiyonu

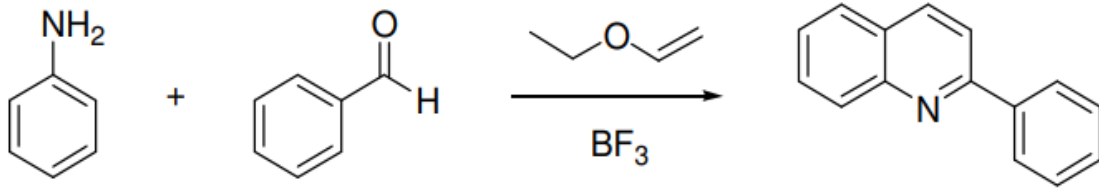
Dobner-Von Miller reaksiyonu, bir anilinin kinolin oluşturmak için α , β -doymamış karbonil bileşikleri ile organik reaksiyonudur [26]. Bu reaksiyon aynı zamanda Skraup-Doebner-Von Miller kinolin sentezi olarak da bilinir ve adını Çek kimyager Zdenko Hans Skraup (1850-1910), Alman Oscar Döbner (Doebner) (1850-1907) ve Wilhelm Von Miller'dan (1848-1899) almıştır [27]. Skraup sentezinin bir varyasyonudur [28]. Katalizör olarak genellikle hidroklorik asit veya çinko klorür kullanılır [29].



Şekil 2. 7 Dobner-Von Miller Sentezi ile Kinolin Eldesi

2.2.5 Povarov Sentezi

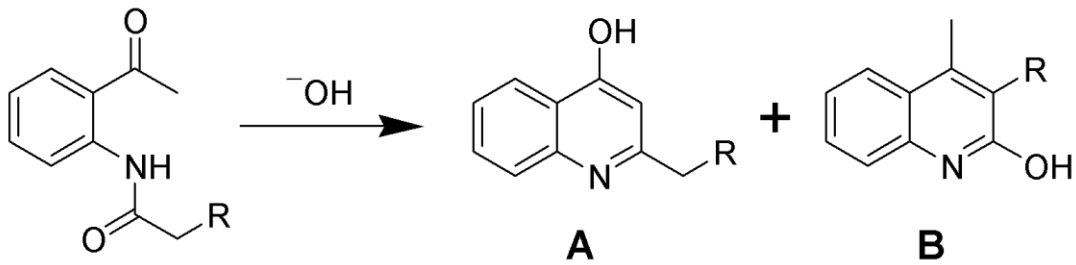
Povarov Sentezi, aromatik imin ile alkenler arasında bir siklo katılma meydana gelmesiyle kinolin yapısının oluştuğu reaksiyon çeşitlerinden biridir (Şekil 2.8). Alken elektron bakımından zengin olmalıdır, bu da alkene bağlı fonksiyonel grupların elektron bağışlayabilmesi gerektiği anlamına gelir. Bu tür alkenler, enol eterler ve enaminlerdir. Povarov reaksiyonu, katalizör olarak boron triflorür gibi bir Lewis aside de gerektirir. Anilin ve benzaldehitin kondenzasyon tepkimesiyle imin yapısı oluşur [30]. Reaksiyonun ilk basamağında bir oksonyum iyonu oluşur, daha sonra aromatik halkasıyla elektrofilik aromatik sübstitüsyon gerçekleştirerek reaksiyona girer ve indirgenerek kinolin halka yapısını oluşturur [31].



Şekil 2.8 Povarov Sentezi ile Kinolin Eldesi

2.2.6 Camps Kinolin Sentezi

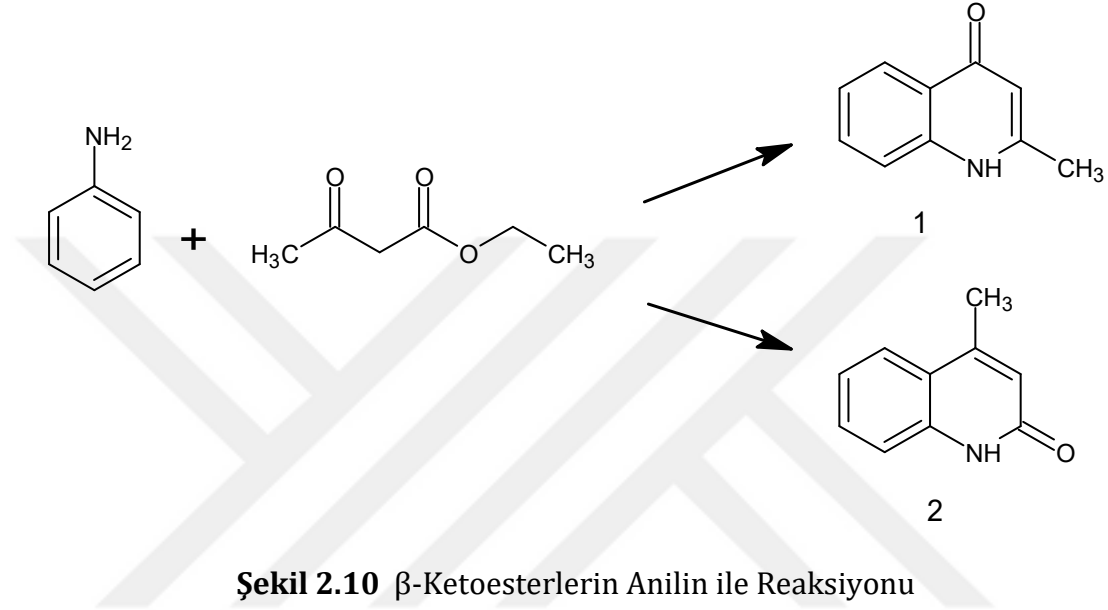
Camps Kinolin Sentezi, başlangıç maddesi olarak o-açilaminoasetofenonun hidroksit iyonu ile tepkimeye sokulması ile iki farklı hidroksi kinolin bileşiğinin elde edildiği reaksiyondur [34]. Oluşan hidroksi kinolinlerin (A ve B) nispi oranları reaksiyon koşulları ve başlangıç maddesinin yapısıyla ilgilidir. Reaksiyon ürünü yaygın olarak bir kinolin (enol formu) olarak tasvir edilmekle birlikte, keto formunun hem katı halde hem de çözeltide baskın olduğu ve bileşiği bir kinolon haline getirdiği gözlenmektedir [34,35].



Şekil 2.9 Camps Kinolin Sentezi

2.2.7 β -Ketoesterlerin Anilin İle Reaksiyonu

Kinolin sentezinde anilin ile beraber 1,3-diketonlar yerine β -ketoester kullanıldığında termodinamik ve kinetik kontrollü iki ürün elde edilebilir [32]. Örneğin, etil asetoasetat ile reaksiyona sokulduğunda kinetik ürün olarak 2-metil-4-kinolin veya termodinamik olarak kararlı 4-metil-2-kinolinon bileşiği elde edilebilir (Şekil 2.9).

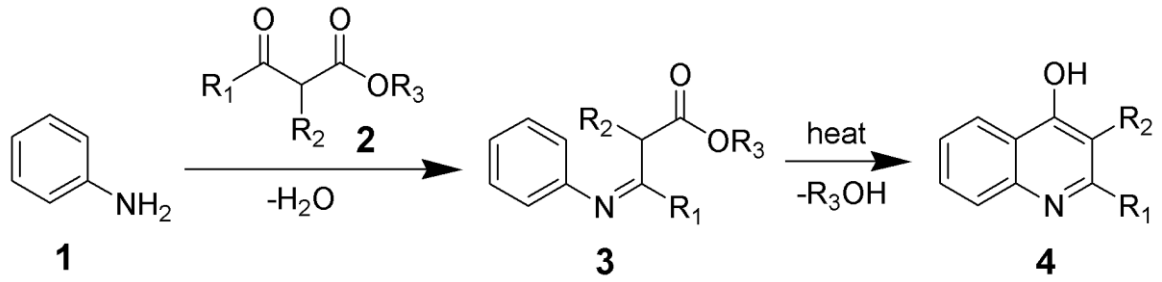


Şekil 2.10 β -Ketoesterlerin Anilin ile Reaksiyonu

Oda sıcaklığında gerçekleştirilen reaksiyon ile bazın, metilin bağlı bulunduğu karbonil grubuna saldırısı daha az kararlı olarak kinetik kontrollü (1) gerçekleşir. Reaksiyon ara basamağında termal siklizasyon gözlenmektedir. Ester karboniline $110-140\text{ }^\circ\text{C}$ 'de saldırı termal olarak daha kararlı yani termodinamik kontrollü ürüne (2) gitmektedir [33].

2.2.8 Conrad-Limpach Sentezi

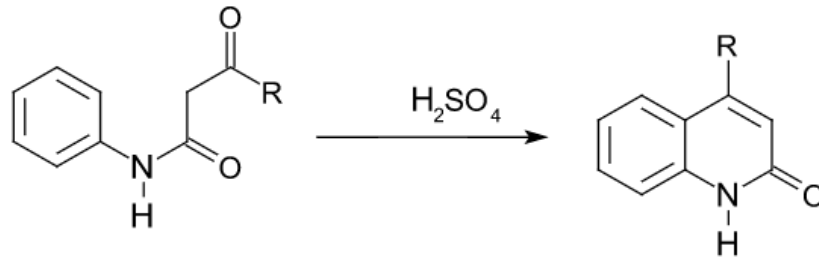
Conrad-Limpach Sentezi 1891 yılında ilk kez denenmiş, anilinler ile β -ketoesterlerin Schiff bazı aracılığı ile 4-hidroksikinolinon oluşturduğu kimyasal kinolin sentez metodudur [36].



Şekil 2.11 Conrad–Limpach Kinolin Sentezi

2.2.9 Knorr Kinolin Sentezi

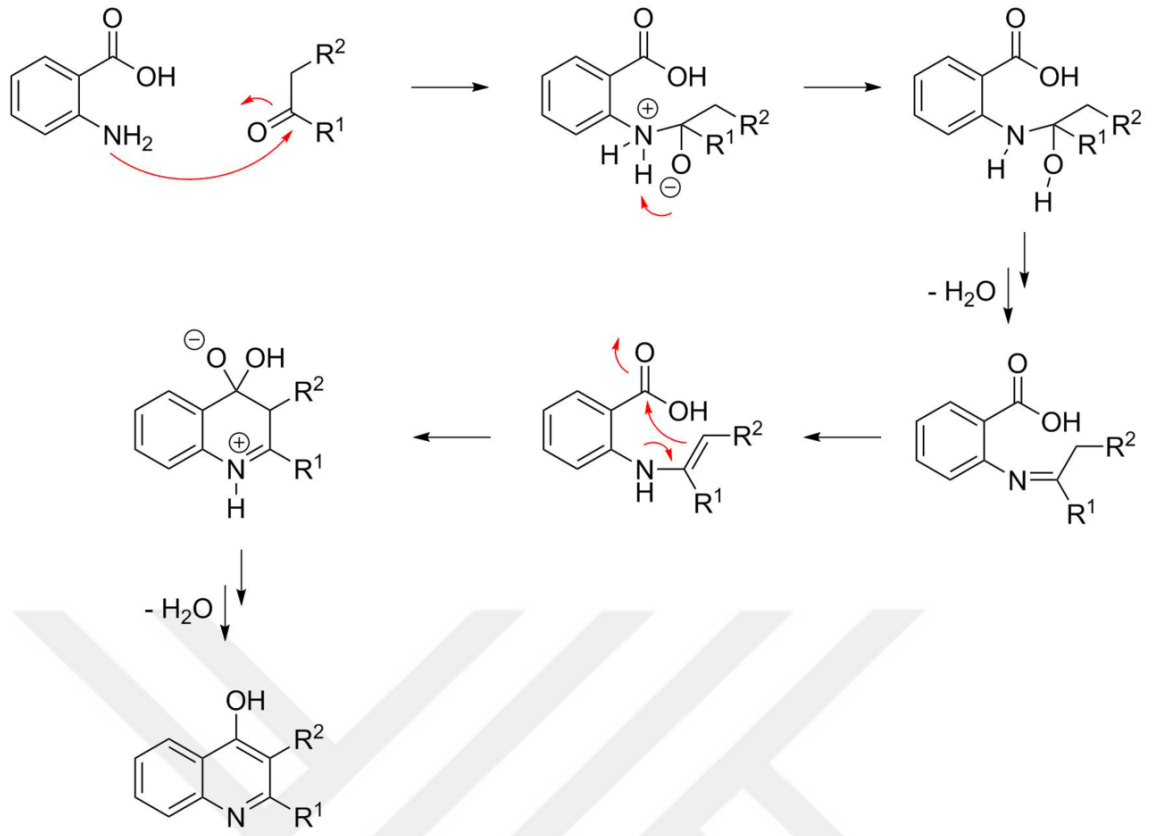
β-Ketoanilin'in sülfürik asit katalizörlüğünde 2-hidroksi kinoline dönüştürüldüğü molekül içi gerçekleşen organik reaksiyon mekanizmasına Knorr Kinolin Sentezi adı verilir [37]. Bu sentez ilk olarak 1886 yılında Ludwig Knorr (1859–1921) tarafından isimlendirilmiştir[38]. Reaksiyon elektrofilik aromatik süstitüsyon mekanizmasıyla gerçekleşir, su çıkışıyla beraber halka kapanması ve bununla beraber kinolinon yapısı oluştuğu gözlenmektedir.



Şekil 2.12 Knorr Kinolin Sentezi

2.2.10 Niementowski Kinolin Sentezi

Polonyalı Kimyager Stefan Niementowski (1866-1925) antranilik asit ile aldehit ve ketonları kullanarak γ-hidroksi kinolin türevlerini sentezlemeyi başarmıştır [43].



Şekil 2.13 Niementowski Kinolin Sentezi Mekanizması

2.3 Kinolinlerin Reaksiyonları

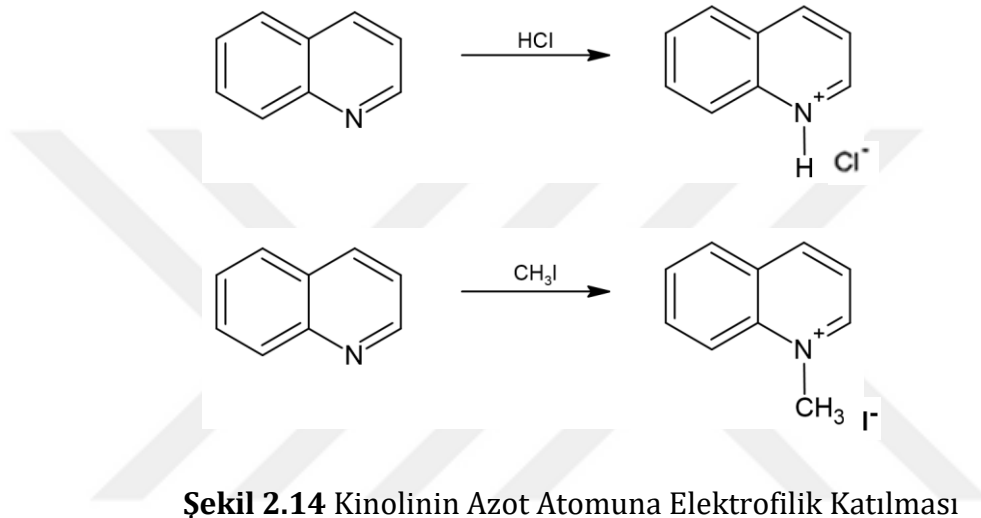
2.3.1 Elektrofilik Sübstitüsyon Reaksiyonları

Kinolinler yapısında bulunan benzen halkasından dolayı elektrofilik aromatik sübstitüsyon reaksiyonlarına yönelirken, piridin halkası ile nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonlarında da etkin olabilirler.

Yapılan araştırmalara göre elektrofilik ve nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonlarını piridinden daha kolay verdikleri tespit edilmiştir. Reaksiyon koşullarına göre hem heterosiklik hem de karbosiklik halka üzerine çeşitli fonksiyonel gruplar bağlanabilir.

2.3.1.1 Azot Atomuna Elektrofilik Katılma

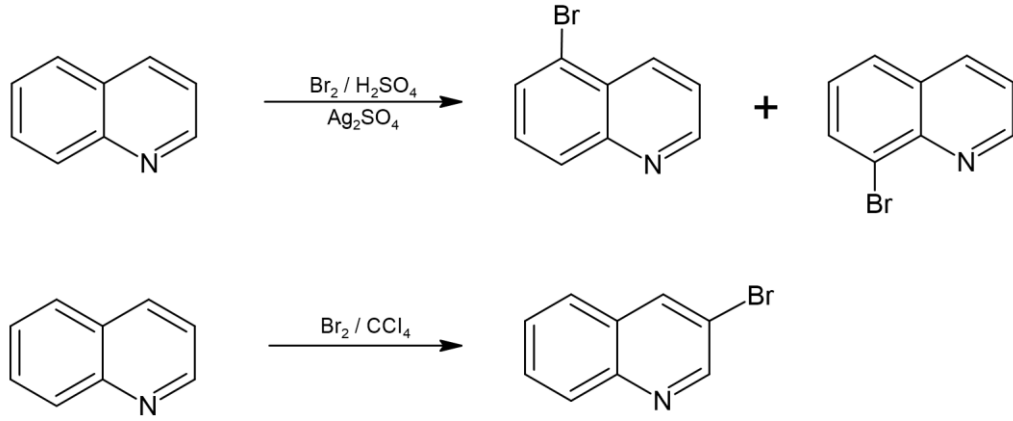
Kinolin halkasındaki benzen ve piridin yapıları, monosiklik sistemlerde reaktiviteden sorumludur. Ancak bitişik halka sisteminde, benzen ve piridin halkasının azotu, HCl, metil iyodür gibi elektrofilik gruplarla reaksiyona sokulduğunda kinolin tuzları oluşturur ki bu durum halkaların reaktivitesinin değişimine sebep olur. Kinolin halka azotuna elektrofillerin katılma reaksiyonu kolay gerçekleşmektedir [41,42].



Şekil 2.14 Kinolinin Azot Atomuna Elektrofilik Katılması

2.3.1.2 Halojenleme

Kinolinlerin halojenasyonu için kullanılan reaktifin yapısı önemlidir. Örneğin kinolinin bromlama reaksiyonunda katalizör olarak (Br₂, CCl₄) kullanıldığında 3-bromokinolin elde edilir. Reaksiyon, katılma veya ayrılma mekanizmalarıyla yürüyebilir. Güçlü asitlerin varlığında (Br₂, H₂SO₄, Ag₂SO₄,) reaksiyon gerçekleştirildiğinde ise, 5- ve 8-bromokinolinlerin oluştuğu gözlenmektedir [40].

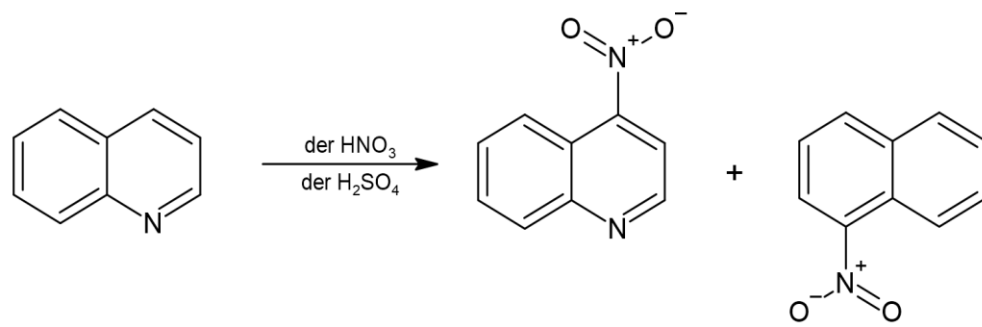


Şekil 2.15 Kinolinlerin Halojenasyonu

2.3.1.3 Nitrolama

Kinolinler, standart yer değiştirme reaksiyon koşullarında elektrofiller ile benzen halkası üzerinden reaksiyon vermektedir. Elektrofilik süstitüsyonun piridin halkası üzerinde oluşmaması, asidik ortamda pozitif yük alan azotun halkada elektrofilik ataklara engel olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak daha ılıman reaksiyon şartlarında heteroaromatik halkada da reaksiyon oluşabildiği keşfedilmiştir [39,40].

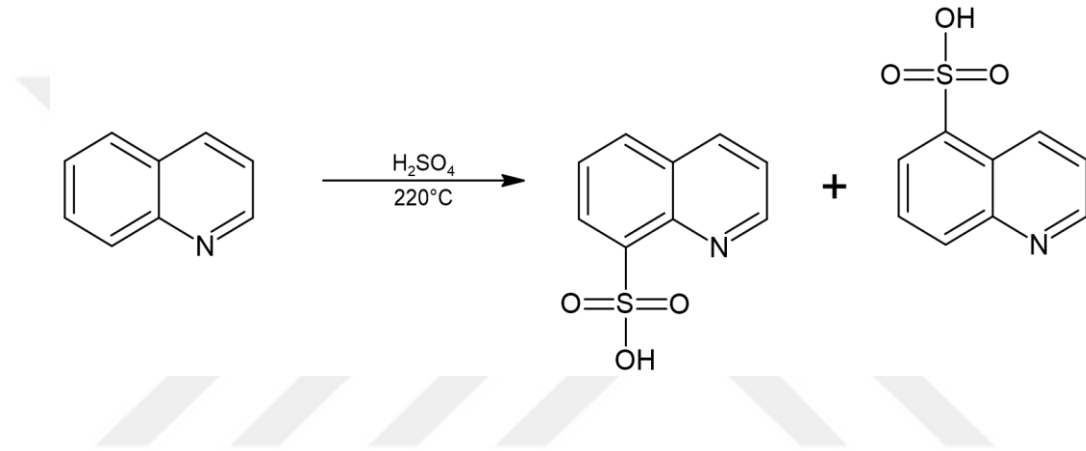
Örneğin, kinolinlere yüksek asidik bir ortamda nitrolama işlemi yapıldığında 5- ve 8-nitro kinolin karışımı oluşurken, asetik anhidrit veya asetik asit gibi daha az asidik ortamlarda nitrolama yapıldığında genellikle 3-nitro kinolin oluşmaktadır [40]



Şekil 2.16 Kinolinlerin Nitrolanması

2.3.1.4 Sülfolama

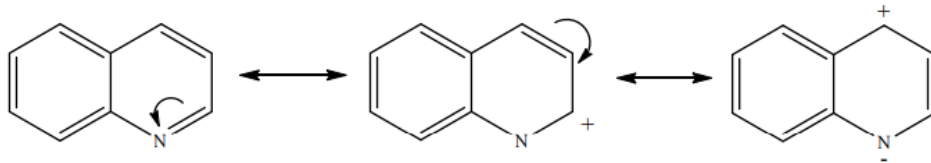
Kinolinlerin sülfolama reaksiyonu benzer şekilde benzen halkasında meydana gelir ancak sülfolama ürünleri deney koşullarına göre de değişebilmektedir. Konsantre sülfürik asit katalizörlüğünde kinolin neredeyse tamamen kinolinyum katyonuna dönüştürülür. 220°C’de sülfolama büyük oranda kinolinin C-8 pozisyonunda oluşurken benzen halkası üzerinde gerçekleştiği görülür. Eğer 300 °C gibi çok yüksek bir sıcaklıkta bu reaksiyonu gerçekleştirmek istersek C-6 pozisyonunda sülfonik asit elde edilir, çünkü reaksiyon termodinamik olarak kararlı kılınmak üzere 5- ve 8- izomerlerini 6- konumuna yeniden düzenlemektedir [40,41].



Şekil 2.17 Kinolinlerin Sülfolanması

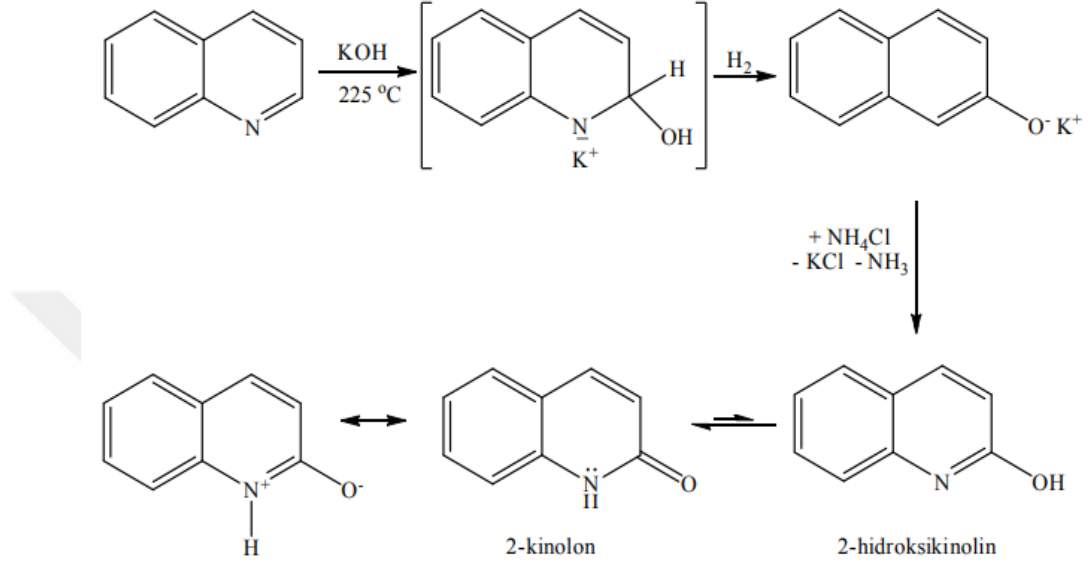
2.3.2 Nükleofilik Sübstitüsyon Reaksiyonları

Nükleofilik sübstitüsyon reaksiyonları kinolin halkası içerisindeki piridin üzerinden yürümektedir. Reaksiyon monosiklik bir piridin halkasına göre kinolinlerde daha hızlı gerçekleşir. Daha çok 2 pozisyonunda nükleofilik atak oluşmaktadır. Bu pozisyon işgal edildiği takdirde nükleofil 4 pozisyonuna atak yaparak nükleofilik sübstitüsyonu gerçekleştirir. 2- ve 4- konumları için Şekil 2.18’deki rezonans yapısına göz atmak yeterlidir. Kinolinin rezonans hallerindeki bu farklılıklar, onu rezonans melezi olarak seçici bir molekül haline getirmektedir.



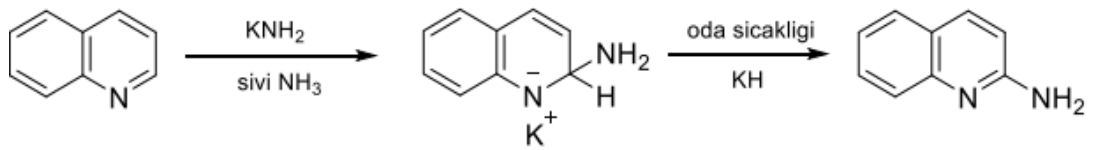
Şekil 2.18 Kinolin’in Rezonans Halleri ve Çift Bağ Dağılımı

Benzen halkası içeren heterohalkalı sistemlerin nükleofilik süstitüsyon reaksiyonları, piridin halkasının nükleofilik süstitüsyon reaksiyonundan daha az rezonans kararlılığı oluşturduğu için piridine göre daha kolay reaksiyon vermektedir [42]. Kinolin, sodyum hidroksit (NaOH) ile 225°C'ye ısıtıldığında bir katılma reaksiyonu gerçekleşir ve bir kinolinon bileşiği elde edilir.



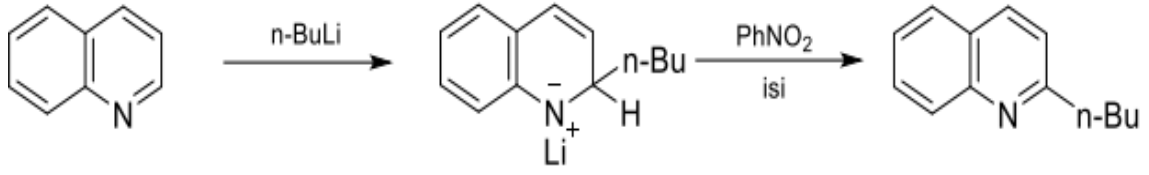
Şekil 2.19 Kinolinin Hidroksillenme Reaksiyonu

Kinolinler, amit anyonu ile nükleofilik katılma reaksiyonunu çok kolay gerçekleştirir. Aşağıdaki reaksiyon koşullarında -65 °C'de oluşan ara ürünün, reaksiyon oda sıcaklığına geldiğinde yeniden aromatikleştiği görülmüştür.



Şekil 2.20 Kinolinin Amit Anyonu ile Reaksiyonu

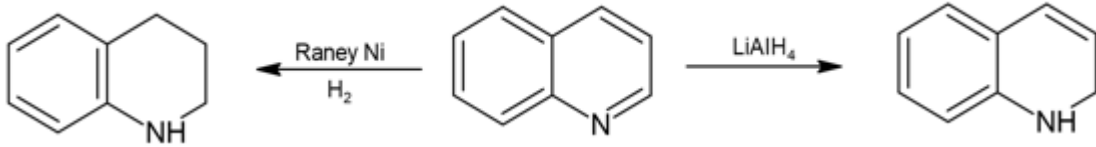
Grignard reaktifleri ile veya aril, alkil- lityum bileşikleri piridinde olduğu gibi kinoline 2 pozisyonundan nükleofilik atak gerçekleştirirler. Bu reaksiyonlar neticesinde 1,2-dihidro tuzları oluşur. Oluşan tuzlar açık hava şartlarında nitrobenzen gibi katalizörler yardımıyla kolay bir şekilde kinoline yükseltgenir.



Şekil 2.21 Kinoline Organolityum Reaktiflerinin Katılması

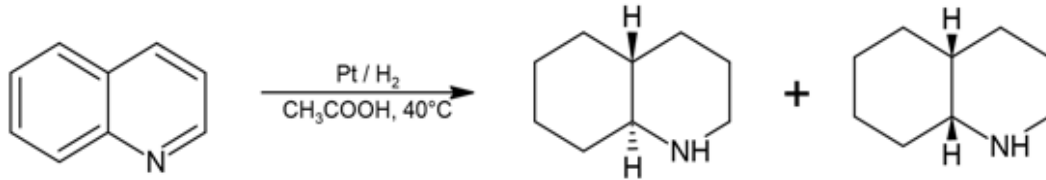
2.3.3 Kinolinlerin İndirgenme Reaksiyonları

Kinolinlerin prenoide halkası elektronca zayıf olduğu için indirgenmeye daha yatkındır. İndirgeme ürünleri büyük ölçüde reaksiyon koşullarına bağlıdır. Kinolin'in bazı indirgenlerle muamelesi, örneğin LiAlH_4 ya da Na -sıvı NH_3 varlığında 1,2- dihidrokinolin oluşumu ile sonuçlanır. Ancak, bu bileşik kararlı olmayıp Fe^{+3} , hatta hava O_2 ile tekrar kinoline okside olur. Alkali metaller ve amonyak ile 1,4- dihidrokinoline indirgenirler. Sn/HCl ilave platin katalizörlüğünde ki hidrojenlenme ile kinolin kolaylıkla indirgenerek 1,2,3,4-tetrahidrokinolin oluşur.



Şekil 2.22 Kinolinin İndirgenmesi

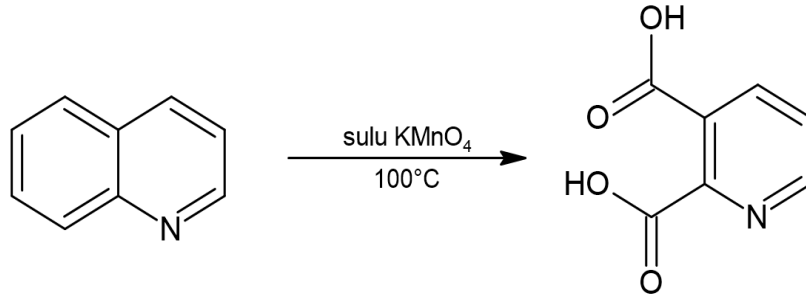
Kinolinler daha kuvvetli indirgen koşullar altında katalitik indirgenme ile cis- ve trans ürüne gider.



Şekil 2.23 Yüksek İndirgen Koşullar Altında Kinolinin İndirgenmesi

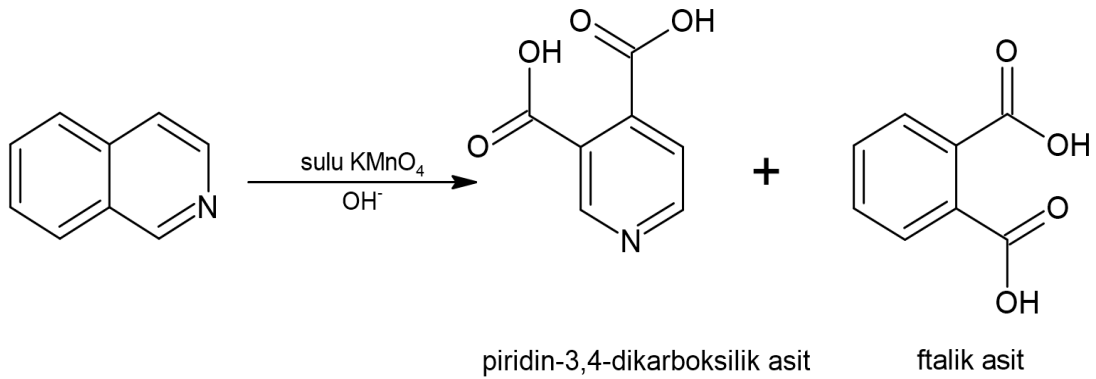
2.3.4 Kinolinlerin Yükseltgenme Reaksiyonları

Kinolinler birçok zayıf yükseltgeyicilere karşı dirençlidir. Bu bakımdan güçlü yükseltgeyicilerle reaksiyona girer, KMnO_4 ile reaksiyona sokulduğunda heteroaromatik halka korunarak ve benzen halkası yükseltgenerek piridin-2,3-dikarboksilik asit oluşur.



Şekil 2.24 Kinolinin Yükseltgenmesi

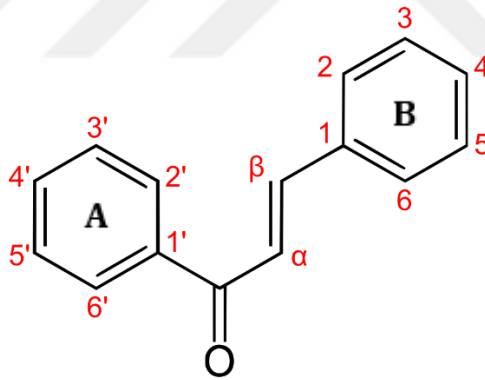
İzokinolin birçok yükseltgen bileşiğe karşı büyük ölçüde dayanıklılık gösterir. KMnO_4 ve KOH bulunan ortamda yükseltgendiğinde ise kısmen homoaromatik ve kısmen de heteroaromatik halkada parçalanma oluşarak piridin-3,4-dikarboksilik asit ile ftalik asit bir arada oluşur. Aynı yükseltgenme nötral ortamda yapılırsa başlıca ftalimid meydana gelmektedir.



Şekil 2.25 İzokinolinin Yükseltgenmesi

2.4 Kalkon Bileşikleri

Kalkon bileşikleri iki aromatik halkanın üç karbonla birbirine bağlandığı ve düz zincirinde α , β -doymamış bir karbonil grubu bulunan açık zincirli flavonoid ailesidir. Kalkonların kolay sentezlenebilir olması ve süstitüsyon kolaylığı sağlayan özgün bir kimyasal yapıya sahip olmalarından dolayı ilaç kimyası ve sentetik organik kimya alanlarında son yıllarda araştırmacıların odak noktası haline gelmiştir. α , β -Doymamış ketonlar olarak da isimlendirilen kalkon bileşikleri doğal maddelerin önemli ana bileşenleri olmalarının yanında sentetik çeşitlilik oluşturmaları açısından da öncü bileşikler olarak değerlendirilmektedir. Bu güne kadar kalkon yapılarının türevlendirilmesi için çok farklı reaksiyon stratejileri geliştirilmiştir. Kalkonların sentezi için en çok tercih edilen reaksiyon Claisen-Schmidt (Aldol kondenzasyonu) reaksiyonu olsa da bunun yanında Suzuki, cross- coupling, Heck reaksiyonu, Friedel Crafts ve Julia Kocienski reaksiyonları da literatürde kullanılan ve bilinen reaksiyonlardır [146-150]. Kalkon isimlendirmesi 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısını içeren bütün yapılar için kullanılmaktadır.



Şekil 2.26 Kalkon Yapısı ve Gösterimi

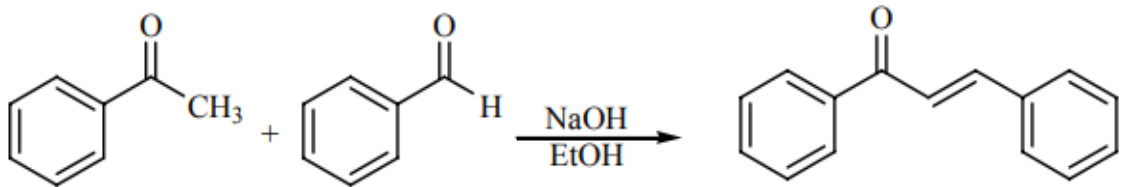
Kalkonlar üzerinde adlandırma yapılırken yapısına bağlı iki halkadan keton grubuna komşu olan aromatik halka A simgesi ile gösterilir ve karbonlar numaralandırılırken üssü (') işareti ile belirtilir. Diğer aromatik halkaya ise B simgesi verilerek normal numaralandırma yapılır. Kalkonların doğal ürünlerin yapı kaynağı olmaları ve sentetik bileşikler olarak flavonoid ailesinin öncü bileşenleri olmaları önemli ölçüde biyolojik aktif maddeler olduğunu ifade eder [151]. Geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahip olmalarından dolayı insan kanser hücrelerinin

kontrol edilmesi için potansiyel etki gösteren antikanser ajanlar olarak kullanılması öngörülmektedir. Yenilebilir doğal kaynaklarda bol bulunan flavonoid ve izoflavonoid ailesinin öncüsü kabul edilirler [152].

Literatür geçmişi tarandığında kalkonların; antikanser, antiinflamatuvar, antitüberküloz ve antifungal aktivite gösterdiği büyük ölçüde tespit edilmiştir [153-155]. Bunların yanında; antioksidant, antimalaryal ve antitümör ajanı oldukları da literatür raporlarında geçmektedir [156].

Kalkon bileşikleri biyolojik aktivitelerinin yanı sıra, farklı türlerdeki optik materyallerde ve holografik kayıt teknolojisi ile polimerlerde UV-absorpsiyon filtresi gibi çeşitli uygulama alanlarında da kullanılmaktadır [160]. Özellikle hidroksi grubu (-OH) içeren kalkon bileşenleri, gıda endüstrisinde tatlandırıcı olarak, kozmetikte ise güneşten koruyucu madde ve fotografik emülsiyon ajanı olarak da kullanılmaktadır [161].

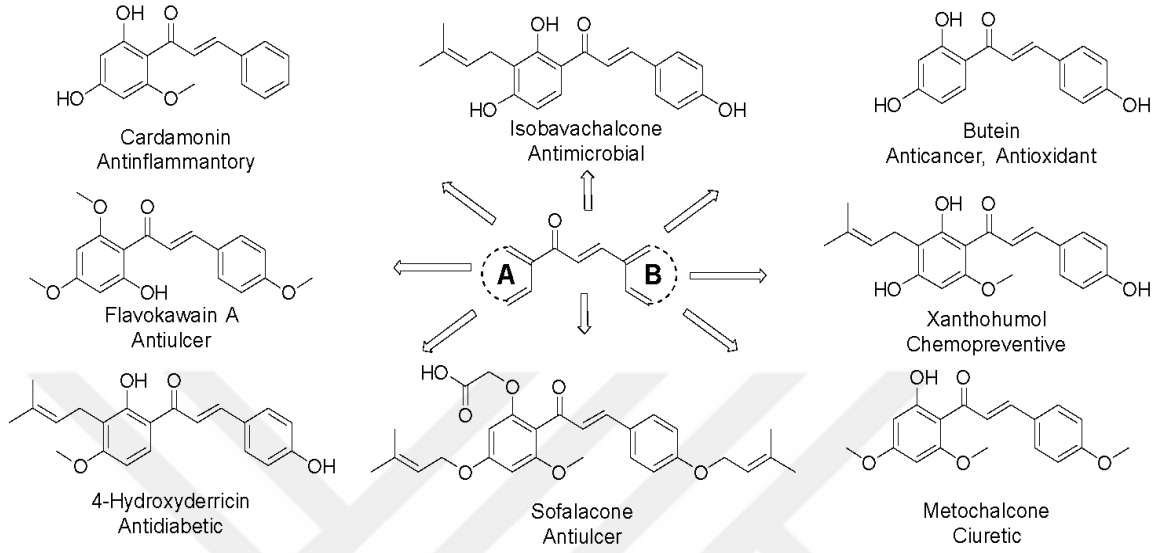
Kalkonlar, benzaldehit ve asetofenon türevlerinden bazik ortamda aldol kondenzasyonu (Claisen-Schmidt) yöntemiyle kolayca sentezlenebilirler. Aldehit ve ketonun etil alkol veya metanol içerisinde NaOH veya KOH gibi bir bazla etkileştirilmesiyle yapılan sentez en klasik yöntemdir. Literatürde kalkonların sentezi için farklı katalizörler kullanılarak gerçekleştirilen benzer yöntemler bulunmaktadır. Bu çalışmada kullandığımız kalkon sentezi metodu aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 2.27 Claisen-Schmidt Kondenzasyonu ile Kalkon Eldesi

Powers ve arkadaşları 1998'de yaptıkları çalışmada, 32 asetofenon türevini 40 adet aldehit türeviyle 4:1 oranında etanol-su karışımı içerisinde sodyumhidroksit (NaOH) ile etkileştirerek ortalama %96 saflık seviyesinde 1280 adet kalkon bileşiklerinin türevlerini sentezlemiştir [157]. Bu güne kadar çok sayıda kalkon

türevleri literatüre girmiş olsa da, bu bileşiklerin sahip olduğu sitotoksik etkilerin geniş bir spektruma yayılması ve biyolojik aktivitelerinin çok yüksek olması yeni kalkon türevlerinin sentezlenmesine hala gereksinim oluşturmaktadır [158].



Şekil 2.28 Çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip kalkon yapıları

Bir keto vinil grubunu yapısında bulunduran çok sayıda bileşiğin biyolojik etken madde olabileceği yapılan çalışmalarla sabittir [162]. Kalkon bileşikleri de keto vinil grubu içeren yapısal bileşenlerdir ve gösterdikleri biyolojik aktiviteden dolayı kalkon bileşikleri üzerine yapılan akademik çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır.

Kalkonlar, yalnızca çeşitli farmakolojik etkilere sahip bir molekül olarak hareket etmekle kalmaz; bunun yerine analogları, bir dizi tıbbi özellikler için çok fazla önem taşımaktadır. Kalkonların halka kapanması, çeşitli farmakolojik özelliklere sahip heterosiklik yapı iskelelerine yol açar. Kinolin analoglarının sitotoksik, antimikrobiyal, antioksidan ve ksantin-oksidad inhibitör etkisine sahip olduğu bildirilirken, kalkonlardan türetilen kinolinon türevlerinin de biyolojik eylem demetleri için anahtar bir molekül olarak hareket ettiği bildirilmektedir. Bunun dışında altı üyeli heterosiklik yapılardan özellikle piridin ve pirimidin analoglarının da biyolojik eylemlerin madenleri olduğu kanıtlanmıştır [159].

3.1 Kanser Oluşumu

Kanser, büyüme ve farklılaşmayı sağlayan hücresel mekanizmalar üzerindeki merkezi kontrolün kaybolması sebebiyle değişime uğrayan bir hücrenin kontrolsüz çoğalması sonucu ortaya çıkan hastalık türüdür. Genellikle çok basamaklı ve uzun süreli genotipik ve fenotipik düzeyde bir süreçte sahip hastalık türüdür. Somatik genetik hastalıkların en sık, en yaygın ve aynı zamanda en komplike olanıdır [44]. Kanseri bilinen 10 temel özelliği ile açıklamak gerekirse;

1. Çoğalma sinyalinin sürdürülmesi: Normal hücreler çoğalmak için dış ortamdan gelen büyümeyi sağlayan faktörlere ihtiyaç duyar. Kanseri hücreleri geçirdikleri mutasyonlar sebebiyle kendi büyüme faktörlerini üretirler.
2. Büyüme baskılayıcılarından kaçma: Kanseri hücreleri, büyüme engelleyici sinyallerini aldıkları reseptörlerin yapısını bozarak bu sistemi atlarlar.
3. Bağışıklık sisteminden kaçma: Normal hücreler bağışıklık sistemi hücrelerine 'dost' olarak görünmelerini sağlayan proteinleri yüzeyinde barındırır. Kanseri hücreleri bu proteinleri yüzeyinde taşıyarak bağışıklık sistemine görünmez olmayı öğrenir.
4. Hücresel ölümsüzlüğün etkinleştirilmesi: Kromozomların uç kısımlarında 'telomer' adı verilen diziler bulunur. Her hücre çoğalmasında telomerler kısalır ve böylece genler korunur. Kanseri hücreleri telomer kısalmasını engellemek için telomeraz enzim aktivitesini arttırırlar, böylece sınırsız çoğalma yeteneğine sahip olurlar.
5. İltihap, yangı ve inflamasyon: Kanserileşmeyi destekleyen yangı ve iltihaplar, büyüme faktörleri ve enzimlerin sayılarını arttırarak kanserin damar oluşturup yayılmasına ortam hazırlar.
6. İnvazyon ve metastazın aktivasyonu: Kanseri hücreleri belirli bir büyüklüğe ulaştığında diğer doku ve organlara göç etmeye başlarlar.

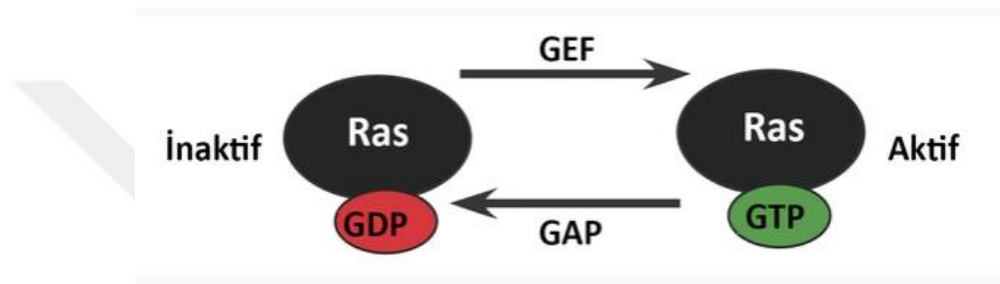
olan sorumlu iki gen vardır. Bunlar tümör baskılayıcı genler ile protoonkogenlerdir [46].

3.1.1 Protoonkogenler Ve Onkogenler

Protoonkogenler; hücre içi sinyal iletimi ve hücre büyümesinin düzenlenmesinde görev alan proteinlerin kodlanmasından sorumludur. Vücudun gereksinimi doğrultusunda hücre sayısı artması gerektiğinde bu genler aktifleşerek hücre çoğalması sağlanır. Genel olarak; hücre döngüsünü kontrol eden proteinlerin, hücre içi sinyal ileticilerinin, ve büyüme reseptörlerinin sentezlenmesinden protoonkogenler ve onkogenler sorumludur [48]. Bu genlerin mutasyona uğramaları sonucunda, transkripsiyon faktörleri ve büyüme faktörlerinin sentez artışı, hücre membranı ile çekirdek arasındaki ara geçişlerin kontrolsüz uyarılması, hücrenin kontrolsüz bölünmesi gibi hücre siklusunda bozukluklar ortaya çıkmaktadır [49]. Onkogenler protoonkogenlerin değişikliğe uğramış homologlarıdır. Normal şartlarda transformasyona uğramayan protoonkogenler; gen amplifikasyonları, translokasyonlar, nokta mutasyonları ve DNA yeniden düzenlenmeleri gibi genetik modifikasyonlar ile aktive olarak, onkogen halini almaktadırlar. Bu hücre genleri ilk kez Retrovirüslerin genomunda saptanmıştır [54]. Hücrenin malign değişimine yol açan çeşitli proteinlerin sentezinden sorumludurlar. Hücre transformasyonunu başlatma ve sürdürme kapasitesine sahiptirler. Protoonkogenlerin işlevsel yapısını ve ekspresyonunu tetikleyen mutasyonlar protoonkogenleri onkogene dönüştürerek kansere neden olabilmektedir [50]. Onkogenlerin kodladığı proteinlere ise onkoprotein denilmektedir. Onkoproteinler hücrede sürekli olarak aktif kalmakta, inaktif olmamaktadır. Bu genlerin ortak özelliği hücrede büyümenin düzenlendiği yollara dahil olup; malignensi onkoprotein regülasyonunu azaltarak aktivasyonunu arttırmalarıdır [51]. Hücre döngüsünün aktivitesini bozan onkogenler, yeterli düzeyde proliferasyon olmayan hücreleri de yok ederek apoptozu tetikler [52,53]. Uygun şekilde aktive olmuş bir onkogen, normal bir hücrenin malign dönüşüm sürecini tetikleyebilmektedir [55].

3.1.2 Ras Geni Ve Ras Proteini

İnsan tümörlerinde ve kanser hücre hatlarında en sık rastlanan onkogen anomalisi ras geni mutasyonudur. Ras geni tarafından kodlanan Ras proteini; hücre bölünmesinden ve farklılaşmasından, hücre içi protein lokalizasyonundan, gen ifadesinin düzenlenmesinden ve büyüme faktörü sinyal iletiminden sorumludur [56]. İnaktif durumdaki normal ras proteinleri hücre dışından sinyal geldiğinde Guanozin trifosfat (GTP) bağlayarak aktifleşir ve uyarıcı sinyalleri nükleusa iletir. Hücreler büyüme faktörleri ile uyarıldığında $GDP \rightarrow GTP$ formuna dönüştürülmektedir [58].



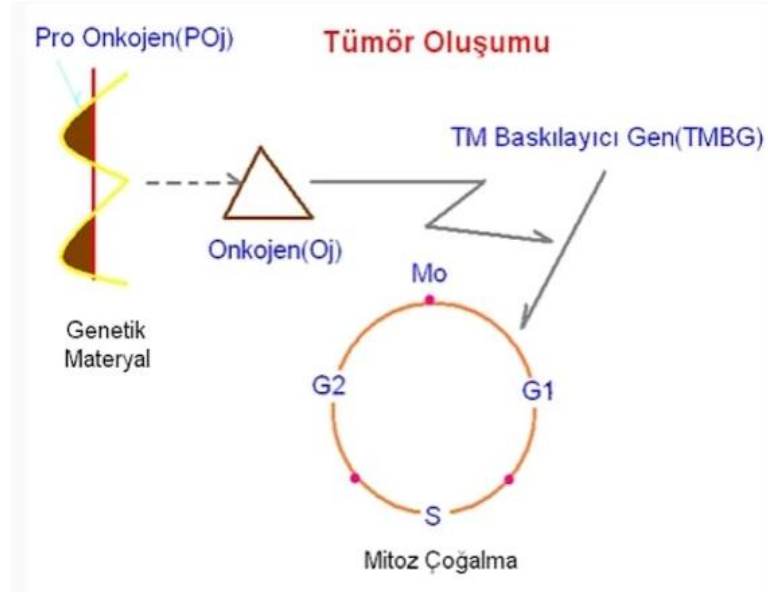
Şekil 3.2 Ras proteini aktivasyonu ve inaktivasyonu [57]

RAS proteini, GTP bağlayan bir protein olarak iki belirgin konformasyon arasında gidip gelen bir anahtar gibi davranır. Guanozin trifosfat (GTP) bağladığında aktif ve Guanozin difosfat (GDP) bağladığında inaktiftir. Aktif ve inaktif durumlar arasındaki geçişi Guanin nükleotidi elementleri (GEF) düzenler. GEF'ler GDP'nin ayrışmasını ve sonrasında GTP'nin sitozolden alımını uyararak RAS genini aktifleştirirler. GTPaz etkinleştirici proteinler (GAP) RAS'taki GTP'nin hidroliz hızını arttırarak RAS'ı inaktive hale getirirler. Mutant RAS formları GAP'a duyarsız olduklarından sürekli GTP bağlı olarak aktif durumda kalırlar. Bu yüzden kanser oluşumunu teşvik ederler. Ras proteinleri büyüyen hücrenin proliferatif ve değişim sinyallerinde aktif rol aldıkları için tüm kanser türlerinde somatik kazanılmış fonksiyonel mutasyonlara çok açıktır ve insan kanserlerinde en sık görülen genetik farklılıklardandır [59,60,61]. Hücrelerin; sinyal transdüksiyonu, proliferasyonu, farklılaşması, migrasyonu, adezyonu, apoptozisi gibi süreçlerinde görev aldığından Ras ve Ras ilişkili proteinler arttığında; invazyon ve metastazı arttırmak ve apoptozu azaltmak yoluyla sıklıkla kanser oluşumuna sebep gösterilmektedir [62].

3.1.3 Tümör Baskılayıcı Genler

Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalar, onkogenlerin insan kanseriyle olan ilişkisini açıkça ortaya koymaktadır. İnsan tümörlerinin aktif onkogenleri içerdiğinin keşfedilmesinden bu yana, kanseri tetikleyen nedenleri anlayabilmek adına binlerce bilimsel çalışma yapılmıştır. Bütün bu bilimsel çalışmalar ışığında, onkogen ekspresyonunun sadece kanser başlangıcında değil, aynı zamanda hastalığın devamı için de önemli olduğunu bildirmiştir [63]. Tümör baskılayıcı genler ile onkogenlerin belirlenmesi, hücre büyüme ve farklılaşmasına ve kanser oluşum mekanizmasının anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır [64].

Tümör supresör genler, hücre bölünmesini baskılayan genler olup, büyüme inhibitör yolunun değişik bileşenlerini kodlamaktadır. Bu genlerin fonksiyon bozukluklarında veya eksikliği durumunda kontrolsüz hücre bölünmesi sonucunda kanser oluşumu gözlenmektedir [57,65]. Tümör supresör genler, ilk kez kalıtsal olarak ortaya çıkan kanser türlerinde saptanmıştır. İlk bulunan ve klonlanan tümör supresör gen, insanda 13q14 kromozom bölgesinde bulunan ve bir göz tümörü olan retinoblastoma (Rb) genidir. Kendisine ismini veren retinoblastomada keşfedilmiş olmasına rağmen, Rb'ye ait fonksiyon bozuklukları meme, beyin, kemik, mesane, prostat, melanoma ve akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlerde de tespit edilmiştir [56,66]. Şimdiye kadar 10 civarında tümör supresör gen tanımlanmıştır [67-70]. Tümör supresör genlerde, tek aleldeki değişikliğin normal işlevi bozduğu hücresel onkogenlerin aksine, tümör gelişimi öncesinde her iki alel de işlevini kaybetmektedir. Diğer tümör baskılayıcıların aksine kromozomdaki tek bir aleldeki fonksiyon kaybı, tümör oluşumunun engellenmesine karşı yeterli olamamaktadır. Bununla alakalı bilinen ve üzerinde en çok çalışma yapılan tümör baskılayıcı gen p53 genidir. Bu gen de insanlarda mutasyona sebep olarak kanserleşmeye neden olmaktadır. p53 geni, DNA sentezi ve onarımı, gen transkripsiyonu ve apoptozis gibi önemli hücresel fonksiyonlarda görev alır. Delesyonlar, epigenetik baskılanma, kromozomların düzgün ayrılamaması, nokta mutasyonları ve mitotik rekombinasyonlar tümör supresör genin işlevini yitirmesine sebep olarak hücre döngüsündeki kontrol kaybına ve neticede de karsinogeneze neden olabilmektedir.



Şekil 3.3 Hücre döngüsü ve tümör oluşumu [71]

İnsan vücudu, hücre sayısının dengede tutulduğu fonksiyonel mekanizmalar ile korunmaktadır. Bu korunmanın gerçekleşmesi sadece hücrenin çoğalması, farklılaşması ve apoptozu arasındaki dengenin kurulması ile sağlanır. Birçok tümör supresör gen, hücre döngüsünü baskılayarak, hücreyi farklılaşmaya zorlar ya da apoptozisi tetikleyerek kontrolsüz hücre çoğalmasına 'dur' sinyali gibi davranır. Tümör baskılayıcı genlerde hücre döngüsünü etkileyen genetik süreçlerle birlikte kanserleşme görülmeye başlar. Genin fonksiyonel özelliklerini kaybetmesi sonucu hücreler kontrolsüz büyümeye başlayarak DNA tamir mekanizması ortadan kalkmaktadır. Bunun neticesinde de hücreler kontrolsüz olarak bölünmeye başlar. DNA'nın tamir edilebilmesi hücre döngüsünün devamlılığını sağlarken, tamiri mümkün olmayan genetik süreçte hücre apoptoza uğramaktadır.

Sonuç olarak tümör baskılayıcı genler ve onkogenler hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında kritik roller üstlenmektedir. Ekspresyonları, kanser hücrelerinde gen mutasyonu, delesyonu, inaktivasyonu, yeniden düzenlenmesi ile sıklıkla değiştirilmektedir. Bu değişikliklerin çoğu doğrudan kötü huylu fenotiplerin gelişimi ile ilgilidir. Araştırmalar bu genlerin normal işlevini eski haline getirilmesinin kanser tedavisinin etkili bir yolu olabileceğini öngörmektedir [71].

3.2 Apoptoz

Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün bir şeklidir. Fonksiyonu bozulmuş hücrelerin programlı hücre ölümü olarak tanımlanan mekanizma ile ortadan kaldırılması apoptoz olarak tanımlanır. Genellikle fizyolojik hücre ölümü veya hücre intiharı olarak da bilinmektedir. Apoptoz düzensizliği genellikle insan hastalıkları ile ilişkilidir ve canlı sistemlerdeki dinamik dengenin kontrolü için temel bir stratejidir. Temelde farklı iki hücre ölümü formu, apoptoz ve nekroz tanımlanmıştır. Programlanmış hücre ölümü, fetal gelişim sırasında ve yetişkin dokularında çok çeşitli fizyolojik süreçlerde kritik roller oynar. Çoğu durumda, fizyolojik hücre ölümü nekrozun aksine apoptoz yoluyla gerçekleşir. Aşırı apoptoz dejeneratif bozukluklara neden olabilirken, yetersiz apoptoz neoplastik hastalıklara neden olabilmektedir. Hücrelerin yaşamlarını sürdürmesi ve embriyolojik gelişimde apoptoz ciddi rol oynamaktadır.

Son yıllarda, apoptozdan sorumlu moleküler mekanizma, apoptoz fenomenini karakterize eden morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerden doğrudan veya dolaylı olarak sorumlu olan bir hücre içi proteaz ailesini, kaspazları ortaya çıkararak aydınlatılmıştır. Proteinlerin bölünmesi öncelikle kaspazlar (Sistein ASpartate-Specific ProteASE'ler) adı verilen bir sistein proteaz ailesinin aktivasyonu ile gerçekleşir [129]. Kaspazlar apoptoz sisteminin merkezinde bulunup, belirli bir başlatma mekanizmaları yoluyla aktive edilirler. Bunlar, apoptozun içsel ve dışsal olarak adlandırılan mitokondriyal ve ölüm reseptörü yolaklarıdır. Her iki yol neticesinde de apoptozun yürütüldüğü aşamaya geçilir. Daha az biline diğer başlangıç yolu ise endoplazmik retikulum yolağıdır [130]. Programlanmış hücre ölümü, hücre zarı reseptörüne ligand bağlanması veya hücre organellerine verilen hasar tarafından tetiklenen kaspazdan bağımsız mekanizmalardan da kaynaklanabilir [131-134]. Kullanılan yol, ilk ölüm sinyaline, ilgili hücre tipine ve pro-apoptotik ve anti-apoptotik sinyaller arasındaki dengeye bağlıdır [129].

Pro-apoptotik veya anti-apoptotik yolun seçilip seçilmediğinin kontrolü, pozitif ve negatif genetik ve çevresel düzenleyicilere bağlıdır. Pro-apoptotik gen aktivasyonu hücre ölümüne yol açarken genin deaktivasyonu apoptotik yolları bloke edecektir. Genetik düzenleme, hücrenin yakın çevresinden gelen dışsal uyaranlarla da değiştirilebilir.

Apoptotik hücrelerin bulunduğu doku hücrelerinden alınan kesitler ışık mikroskopu altında incelendiğinde hücrelerin plazma membranlarında tomurcuklu yapılar olduğu ve bu hücrenin sitoplazma ile çevrilmiş olan kromatin parçacıklarından oluşan apoptotik parçalara ayrıldığı belirtilmektedir. Bu olaylar hücrede meydana gelirken, hücredeki canlılık devam etmektedir. Apoptozise uğramış hücreler makrofajlar ve komşu diğer hücreler tarafından tanınır ve fagosite edilir. Bu tanınma olayı hücre membranındaki değişimlerden anlaşılmaktadır. Normalde hücre membranı iç tabakasındaki fosfatidil serin, aminofosfolipid transferaz enzimi ile membranın dışına göç eder ve ardından fagositik hücrelerin reseptörleri fosfatidil serin ile bağlanarak fagositozu uyarmaktadır [135]. Hücreler apoptozun ilk evresinde birleşme bölgelerinden ayrılarak ve yüzey organellerini kaybederek belirgin şekilde büzülmemektedir. Büzülmeden sadece birkaç dakika sonra hacimlerinin 1\3'ünü kaybetmektedir. Bu olayın sebebi plazma membranındaki iyon kanalları ve pompaların aktivasyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır [136]. Apoptotik yollarda aktive veya inaktive olan anahtar apoptotik proteinlerin birçoğu tanımlanmış olmasına rağmen, bu proteinlerin moleküler etki veya aktivasyon mekanizmaları tam olarak anlaşılmamıştır ve devam eden araştırmaların odak noktasıdır. Apoptozun mekanik mekanizmasını anlamının önemi hayatidir, çünkü programlanmış hücre ölümü, çeşitli fizyolojik ve patolojik uyaranlar tarafından başlatılan hem sağlığın hem de hastalığın bir bileşenidir. Ayrıca, apoptozun hastalığın patofizyolojisinde yaygın olarak yer alması, birçok farklı kontrol noktasında terapötik müdahaleye olanak tanır.

Son yıllarda apoptoz mekanizmasının anlaşılmasında ve buna bağlı kanser tedavileri için geliştirilen aşı ve ilaç çalışmalarında büyük bir artış gözlenmektedir. Yapılan çalışmalarda apoptoz mekanizması hedeflenerek çeşitli kanser türleri için yeni tedavi stratejileri keşfedilmiştir. Yeni geliştirilen rasyonel stratejiler sayesinde hem tümör hücreleri hem de normal hücreleri öldüren, acımasız yan etkilere sahip olan geleneksel antikanser ilaçlara alternatif tıbbi çözümler aranmaktadır. Hücrelerde apoptozisi tetikleyen sinyallerin netleştirilmesi, kansere yönelik yeni terapilerin geliştirilmesi için umut vadetmektedir.

SFİNGOLİPİTLER VE SERAMİDLER

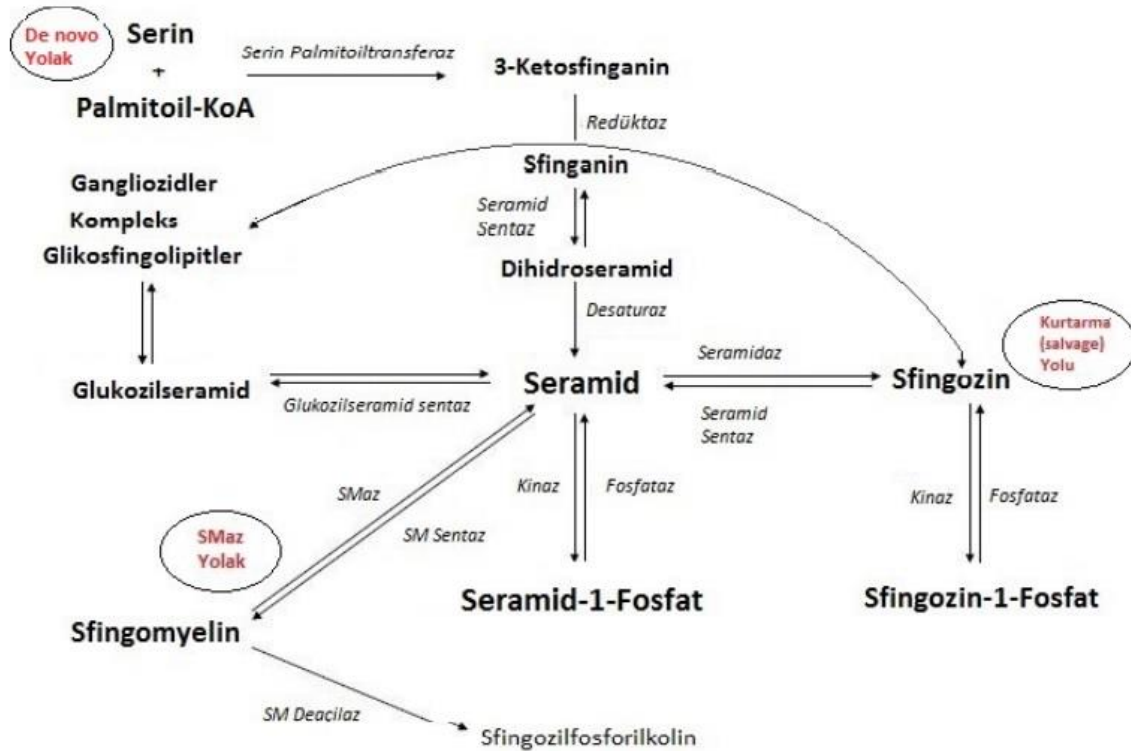
4.1 Sfingolipit Yapısı Ve Metabolizması

Sfingolipitlerin kanser içerisindeki hücre büyümesi ve proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir [71]. Sfingolipidler, biyolojik zarların yapısal bileşenleri olup, bariyer işlevini sürdürerek membran akışkanlığını kontrol ederler [72]. İlk olarak 19. yüzyılda Thudichum tarafından tanımlanmış olan sfingolipitler, biyolojik zarlarda bulunan üç ana lipit ailesinden birini temsil etmektedir [73]. Hidrofilik ve hidrofobik bağ yapısının ikisini de içerdiğinden amfipatik moleküllerdir. Hidrofilik kısım organofosfat grupları veya disakkaritlerden, hidrofobik kısım ise seramid bir parçadan meydana gelir [74,75]. Normal doku ve hücre homeostazının önemli yapı taşlarıdır.

Seramid, sfingolipid metabolizmasının merkezi molekülüdür. Bir sfingosin bazından ve uzunlukları C14 ile C26 arasında değişen amide bağlı yağ asiti zincirlerinden oluşan seramid, sfingo miyelin ve seramid-1-fosfat gibi daha karmaşık sfingolipidlerin yapısal ve metabolik öncüsü olarak hizmet eder. Seramid sentezi ve metabolizması, endoplazmik retikulum ve Golgi aygıtında meydana gelir. Bu nedenle seramidin taşınması (hem veziküler hem de veziküler olmayan mekanizmalarla) sfingolipid yolunda kritik öneme sahiptir [76].

Son zamanlarda yapılmış olan sfingolipid metabolizması ve işleviyle ilgili biyokimyasal ve moleküler çalışmalarda, sfingolipit metabolitlerinin uyarıcı aracılı sinyalleşmede ve düzenlenmelerde aynı zamanda inflamasyon, hücre proliferasyonu, apoptoz, anjiyogenez ve transformasyon dahil olmak üzere birçok hücresel süreç üzerinde etkili moleküller olarak işlev gördüğü kanıtlanmıştır [77,78]. Önemli olarak, bu sfingolipidler ile metabolik olarak ilişkili olan seramidazlar, seramid sentazlar, sfingosin kinazlar ve S1P (sfingozin-1-fosfat) dahil olmak üzere normal hücresel fonksiyon ve hastalıklarda önemi giderek artan enzimler birbirleriyle bağlantılı biyoaktif lipit araçlarından oluşan bir ağ oluşturur.

Bu ağ sayesinde hücre çoğalması, apoptoz, inflamasyon ve hücre döngüsü üzerinde etkiler ortaya konularak tümör ve kanser evrelerinin oluşumu, ilerlemesi ve baskılanması ile ilgili çeşitli çalışmalar üzerinde yoğunlaşmaktadır [79].



Şekil 4.1 Sfingolipit Metabolizması [80]

4.2 Seramid Aktivasyonu

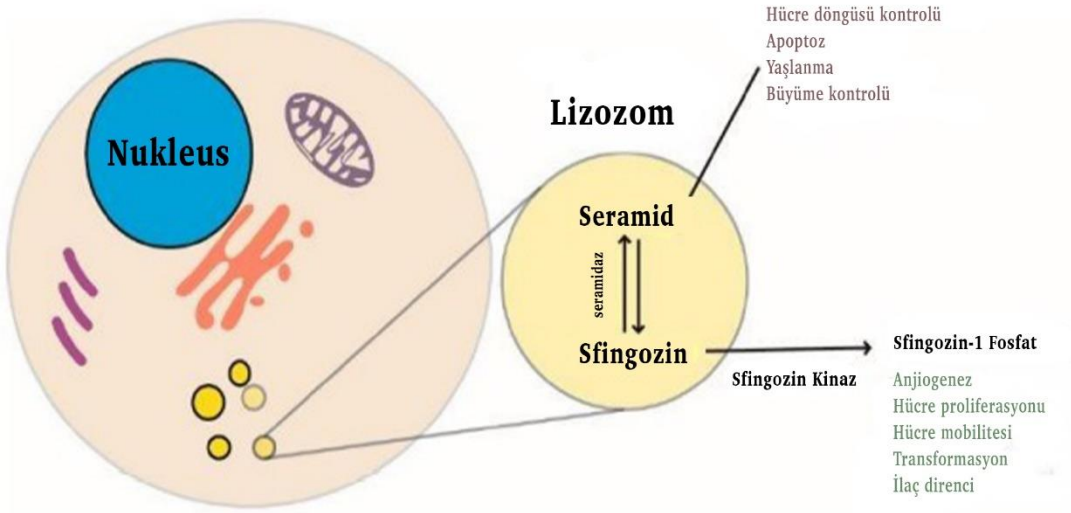
Seramid, apoptoz, sinir sistemi rejenerasyonu ve kalsiyum taşınımı dahil olmak üzere çeşitli hücre içi fonksiyonlarda görev alan nispeten basit bir sfingolipit yapısıdır [90]. Sfingolipit metaboliti olan seramidler, yüksek biyoaktif özellikleri bakımından sfingolipit mekanizması için merkezi rol oynamaktadır. Seramidler, sfingolipitlerin oluşması için öncül görev üstlenen ve aynı zamanda canlı hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu sinyal molekülleridir. Sfingozin bazı ve amid bağlı yağ asidi zincirinden oluşan seramidler ökaryotik hücrelerin hücre zarı içerisinde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır [82]. Yapısal olarak hidrofobik olan seramidler, güçlü etkileşimlerle birbirlerine bağlanarak

membrandaki diğer lipid gruplarından kendiliğinden ayrılabilirler. Böylece hücre membranının diğer bölgelerinden farklı olarak hidrofobitesi ve fizyolojik özellikleri daha zengin seramid membran alanları oluştururlar [81]. Bu alanlar, sfingolipit raflarının oluşumu için kritik rol oynayan bariyerler olarak keşfedilmiştir [82].

Yapılan çalışmalar, membran seramidlerinin, hücre permeabilitesini etkileyerek büyük moleküllerin hücre membranından geçişini sağlayan porları oluşturabileceğini ve bu sayede apoptozis esnasında mitokondriyal membranlarda sitokrom c ve benzeri enzimlerin salınımı gibi çeşitli süreçlerde seramidlerin rol oynayabileceğini göstermektedir [83].

Seramidler, de novo biyosentez yolu, hidrolitik yol ve kurtarma yolu olarak adlandırabileceğimiz farklı hücre kısımlarını içeren üç farklı yolla üretilirler [84]. Bunlar; sfingomiyelinaz enzimi tarafından sfingomiyelinin hidrolizi ile, kompleks sfingolipitlerin yıkılmasıyla ya da sfingozin gibi bazı moleküllerin üretimi amacıyla seramidaz enzim aktivasyonu ile olabilir [83,84]. Seramid üretimi hücre içi apoptozu tetikleyerek hücre döngüsünün durdurulmasına sebebiyet verebilir. Ancak bu durum çeşitli enzimler yoluyla; örneğin glukosilasyon ile inaktif duruma getirilmesi veya sfingozin-1-fosfat enzimi gibi büyümeyi arttıran moleküller yoluyla metabolize edilebilir. Bu yüzden seramid ve S1P arasındaki denge hücrenin kaderini belirleyecek kadar önemlidir [85,86].

Sfingolipidlerden oluşan ve hücrelerde ikinci haberci olarak görev yapan seramid, seramid-1 fosfat, sfingozin ve sfingozin-1 fosfatın, apoptoz, hücre proliferasyonu, ve hücre döngüsü üzerindeki etkisi büyük önem arz etmektedir [89]. Özellikle hücre çoğalmasındaki genlerin düzenlenmesinden sorumlu olan seramid ve S1P arasındaki bu hücresel dengenin seramid yönüne kayması hücrenin çoğalmasının engellenmesine ve apoptozise yol açarken; dengenin S1P yönüne kayması hücrenin proliferasyon olmasına ve apoptozdan kaçmasına sebep olmaktadır. Hücre içindeki bu dengenin korunmasında seramidaz enzim düzeyi çok önemlidir. Kanseri hücrelerinde artan seramidaz enzim aktivasyonu, seramid düzeyini S1P'ye hidroliz ederek azaltırken S1P düzeyini arttırmakta, kontrolsüz hücre çoğalmasını uyarırken, apoptozu baskılamaktadır [87,88].



Şekil 4.2 Seramid ve S1P arasındaki denge

4.3 Sphingosine-1-Fosfat (S1P)

Sfingolipidlerin biyolojisinde özellikle ilgi çekici olan, bir yandan seramid ve sfingosinin, diğer yandan sfingosin-1-fosfatın çeşitli hücrelerde uyguladığı antagonistik rollerdir. Seramid ve sfingosin apoptoz, hücre döngüsü durması ve farklılaşmaya aracılık ederken, S1P apoptozun proliferasyonunu, hayatta kalmasını ve inhibisyonunu teşvik eder [99].

Birkaç çalışma, seramidden bağımsız olarak hücre ölümünün indüklenmesinde sfingosinin spesifik bir rolünün olduğuna işaret etmektedir. Sfingosinin biyolojik işlevleriyle ilgili olarak, kesin bir sonucu imkansız kılan birçok tartışmalı çalışma yayınlanmıştır. Bir tarafta, sfingosinin hücre proliferasyonunu artırmak için bir mitojen gibi davrandığı gösterilmiştir [91,94]. Mekanik olarak, sfingosinin mitojenik bileşik olan S1P'ye dönüştürüldüğü varsayılmaktadır [91]. Öte yandan, sfingosin de apoptozu tetikleyebilir [95,98]. Bu çelişkili veriler, lipid molekülleri, seramid, sfingosin ve S1P'nin hızlı karşılıklı dönüşümünden kaynaklanıyor olabilir.

4.4 Seramidaz

Seramidazlar, seramidlerin sfingosin ve yağ asitlerine ayrılmasını katalize eden heterojen bir N-açil sfingosin amid hidrolaz enzim ailesidir [100]. Şu anda, beş farklı gen tarafından kodlanan beş farklı insan seramidazı mevcuttur. Bunlar, üç alkalın seramidaz (ACER1, ACER2 ve ACER3), asit seramidaz (ASAH1) ve nötral seramidaz (ASAH2) olmak üzere üç grup olarak birbirinden ayrılırlar [101]. Bu seramidazlar, farklı hücrel bölmlerde bulunur ve farklı substrat özgünlükleri sergiler [102]. Bu üç tür seramidaz enzimleri arasından lizozomda lokalize olan asidik seramidaz ASAH1, araştırmaların çoğunda ana yapı olarak incelenmiştir [103]. Bunun sebebi 4.5 gibi optimal bir pH değerine sahip olması ve substrat olarak doymamış orta zincirli doymamış seramidleri tercih etmesinden kaynaklanmaktadır [100,104]. Nötral seramidaz ASAH2, 7 ila 9 arasında değişen geniş bir optimal pH'a sahiptir ve diğer seramid izomerlerine göre bir substrat olarak doğal D-eritro-seramid izomerini tercih eder [100,105]. Alkalın seramidazlardan ACER1, endoplazmik retikuluma lokalizedir ve substrat olarak çok uzun zincirli doymamış seramidleri tercih eder. ACER2, substrat olarak uzun veya çok uzun zincirli seramidleri kullanan bir golgi seramidazdır. ACER3 ise hem endoplazmik retikulum hem de golgi aygıtına lokalize olmuş ve substrat olarak uzun zincirli doymamış seramidleri tercih eden seramidaz enzim çeşididir [100,106]. Kayda değer bir şekilde, bu seramidazların çoğu, seramidin hidrolizini (seramidaz aktivitesi) ve seramid oluşumunu CoA'dan bağımsız bir mekanizma yoluyla katalize ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte, enzimlerin hücrelerde hangi aktiviteyi tercih ettiği hala belirsizdir.

Baş ve boyun kanseri, prostat kanseri ve melanoma dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde yüksek aCDase ekspresyonu rapor edilmiştir [107]. Yapılan çalışmalar doğrultusunda, aCDase aşırı ekspresyonu tümör hücrelerini kemo ve radyoterapiye dirençli hale getirirken, aCDase aktivitesinin inhibisyonu tümör hücrelerini kemo ve radyoterapinin etkilerine karşı duyarlı hale getirdiği, tümör büyümesini azaltıp kanserin nüksetmesini önlediği doğrulanmıştır [108,109,110,111]. Bu sebeple, aCDase umut verici bir kanser ilacı hedefi olarak ortaya çıkmıştır [112].

Asit seramidaz ekspresyonunun, seramidin S1P'ye dönüşümünü kontrol ederek yeni oluşan embriyoların hayatta kalması için temel faktör olduğu da bulunmuştur[113]. Ayrıca son zamanlarda aCDase aktivitesinin, hücrel seramid

seviyelerini düzenleyerek ve böylece teka hücrelerinin apoptozunu önleyerek yumurtalık gelişimi ve oosit hayatta kalmasında çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir [114].

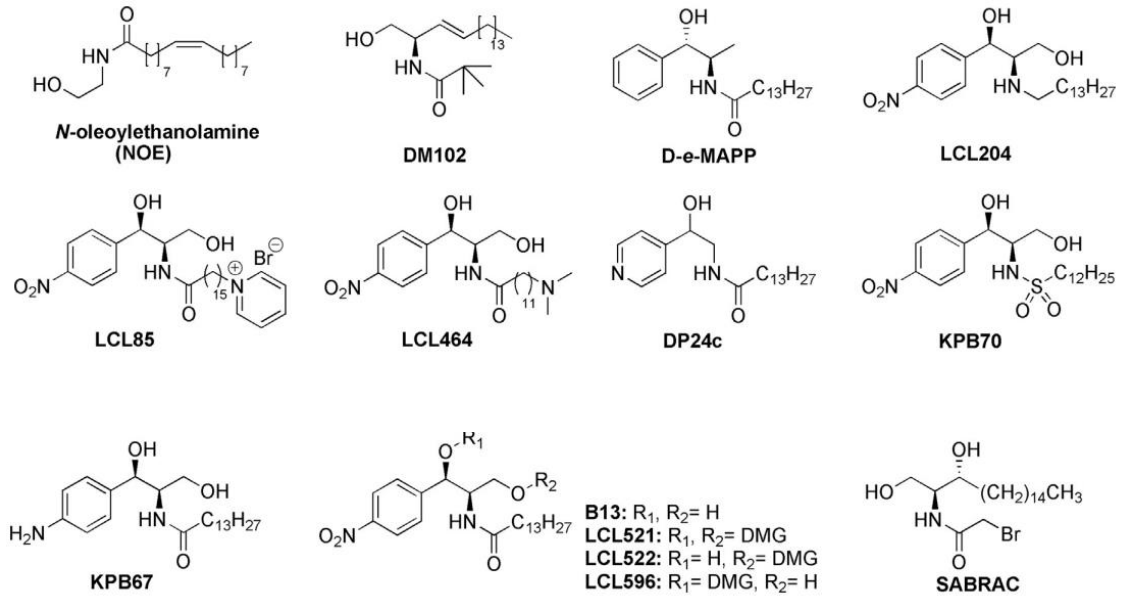
Seramid genel olarak pro-apoptotik bir lipid olduğundan, spesifik bir seramidazın inhibe edilmesinden elde edilen sonuçlar oldukça benzer olmalıdır. Seramidazlardan herhangi birinin inhibisyonu, hücrel seramidde bir artışla sonuçlanmalıdır. Farklı seramid havuzlarının nasıl birbirine bağlı olduğu ve bir seramidazın inhibisyonunun başka bir seramidaz tarafından ne ölçüde telafi edilebileceği hakkında net sonuçlar bulunmadığı için bu konu hakkındaki çalışmalar devam etmektedir.

4.4.1 Seramidaz Enzim İnhibitörleri

Sfingolipid metabolizmasının ana merkezi olan seramid, çeşitli seramidaz enzim izoformları ile parçalanabilir ve 27 sfingozin ve serbest yağ asidine dönüştürülebilmektedir.

Son yirmi yılda, birinci nesil inhibitörler olarak bilinen seramidlerin yapısal ve stereokimyasal modifikasyonlarına dayanarak bir dizi seramidaz inhibitörü geliştirilmiştir. Seramidazın ilk seramid taklit inhibitörü N-Oleoyl thanolamid (NOE)'dir. Bu bileşik, seramidin endojen hücrel seviyelerini artırır ve farklı hücre hatlarında apoptozu indüklemektedir [100,115]. Daha ileri çalışmalarda, NOE'nin bir dizi yapısal analogu geliştirilmiş ve ayrıntılı bir yapı aktivite ilişkisi (SAR) çalışmaları yapılmıştır. Bununla birlikte bazı analogları daha güçlü asit seramidaz inhibitörleri olarak ortaya çıkmıştır [116].

NOE'nin yanı sıra endojen seramid seviyelerini artıran ve seramidazların inhibisyonu yoluyla farklı hücre dizilerinde apoptozu indükleyen antikanser ajanlar olarak bir dizi lipofilik aromatik seramid analogu geliştirilmiştir. Bunlar seçilmiş birinci nesil inhibitörler olarak Şekil 4.3'te verilmiştir.

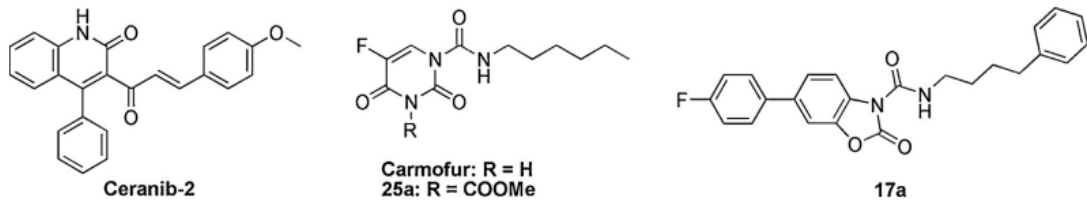


Şekil 4.3 Birinci Nesil Seçilmiş Seramidaz Enzim İnhibitörleri

Yapısal olarak modifiye edilmiş bir D-e-MAPP analogu olan B13'ün (1R, 2R veya 1S, 2S- (2-N-miristoilaminol-(4-nitrofenil)-1,3-dihidroksipropen), insan melanomunda güçlü ve seçici bir asit seramidaz inhibitörü olduğu bulunmuştur[117]. B13'ün ayrıca endojen seramid seviyelerini regüle ettiği ve birkaç kanser hücre hattında apoptozu indüklediği de gösterilmiştir [118].

Genel olarak, enzimin bir allosterik bölgesine bağlanan seramid ile ilgisi olmayan yapı iskelelerinden daha güçlü (ve ayrıca daha fazla ilaca benzer) inhibitörler beklenebilir. Bu tür moleküller genellikle kütüphane taraması gibi rasyonel olmayan yaklaşımlardan veya tesadüfen elde edilir. Son birkaç yılda, seramidazların bir dizi seramid ile ilgisi olmayan inhibitörleri (ikinci nesil inhibitörler) geliştirilmiştir (Şekil 4.4).

Draper ve arkadaşları, 50.000 ilaca benzer bileşikten oluşan bir kütüphaneyi tarayarak, insan seramidaz aktivitesinin ilk seramid ile ilgisi olmayan inhibitörleri olarak kinolinon bazlı bileşiklerin yeni bir sınıfını tanımlamışlardır [119].



Şekil 4.4 İkinci Nesil Seçilmiş Seramidaz Enzim İnhibitörleri

4.4.1.1 Seranib-2

Ceranib-2'nin, hücre bazlı deneylerde ($28 \mu\text{M}$ 'lık bir IC_{50} ile) hücresel seramidaz aktivitesini doza bağlı olarak inhibe ettiği ve seramidlerin birikmesine ve sfingosin ve S1P seviyelerinde bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Önceki çalışmalarda, ceranib-2'nin sitotoksik etkisinin, insan yumurtalık karsinomunda (SKOV3) hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve hücre döngüsü durmasını ve hücre ölümünü indüklediği sonuçları da bulunmaktadır. İn vivo olarak, Ceranib-2'nin, hematolojik baskılama veya açık toksisite belirtileri olmaksızın, genetik bir tümör modelinde tümör büyümesini geciktirdiği ortaya konmuştur [119].

Yapılan bu çalışmalar neticesinde, ceranib-2 yapısı esas alınarak kinolinon bazlı bileşik sınıflarının, insan kanser hücre hatlarındaki sitotoksik etkileri ile hücrelerdeki apoptotik fonksiyonları incelenerek antikanser ilaç tedavilerinde umut vaat eden yeni asit seramidaz inhibitörleri olarak keşfedilmesi amaçlanmaktadır.

4.5 İn Vitro Sitotoksisite Testleri

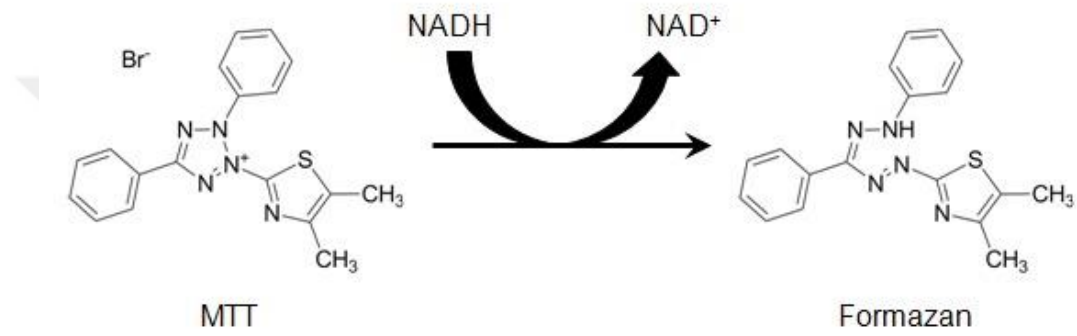
Sitotoksisite, in vitro çalışmalarda biyolojik değerlendirme için en önemli göstergelerden biridir. İn vitro olarak, ilaçlar ve pestisitler gibi kimyasallar, hücre zarlarının yok edilmesi, protein sentezinin önlenmesi, reseptörlere geri dönüşümsüz bağlanma vb. gibi farklı sitotoksisite mekanizmalarına sahiptir. Bu hasarların neden olduğu hücre ölümünü belirlemek için ucuz, güvenilir ve tekrarlanabilir kısa süreli sitotoksisite ve hücre canlılığı analizlerine ihtiyaç vardır. Sitotoksisite ve hücre canlılığı deneyleri, çeşitli hücre fonksiyonlarına dayanmaktadır.

Üzerinde çalışılan bir maddenin biyolojik davranışının anlaşılabilmesi için canlı hücreler üzerinde toksik veya non-toksik bir etkisinin olup olmadığının belirlenmesi gerekir. İn vitro sitotoksikite testleri ise bir maddenin toksik özelliklerinin belirlenmesi için yapılan laboratuvar ortamındaki hücre kültürü çalışmalarına dayanır.

İn vitro hücre kültürü sistemleri için, bir bileşik veya tedavi, hücresel bağlanmayı engelliyorsa, morfolojiyi önemli ölçüde değiştiriyorsa, hücre büyüme hızını olumsuz etkiliyorsa veya hücre ölümüne neden oluyorsa sitotoksik olarak kabul edilir [120]. Canlı hücreler sitotoksik bir etmene maruz kaldıklarında, apoptoz, nekroz ve otofaji neticesinde ölebilir veya proliferasyon yetilerini kaybedebilirler. Yapılan sitotoksikite testlerinin türü ne olursa olsun asıl amaç bu yöntem neticesinde canlı kalan veya ölen hücre miktarının tayin edilmesidir [122]. Deneyin sonunda kaç tane canlı hücre kaldığını veya kaç hücrenin öldüğünü bilmek önemlidir. Şu anda toksikoloji ve farmakoloji alanlarında geniş bir sitotoksikite ve hücre canlılığı analizleri yelpazesi kullanılmaktadır. Etkileşim türünün değerlendirilmesinde tahlil yönteminin seçimi çok önemlidir [121]. Bu sistem ile çok miktardaki maddelerin kısa sürede analiz edilmesi mümkün olmakla beraber devamında yapılması gereken in vivo deneyler için en temel veriler elde edilmektedir. Sitotoksikite ya da hücre canlılığının belirlenmesi için birçok yöntem bulunmaktadır. Bunlar genel olarak kolorimetrik, enzimatik, lüminesans ve florometrik yöntemlerdir. Analiz için kullanılacak metodun belirlenmesinde; test maddesinin kimyasal ve fiziksel özellikleri, maddenin hangi mekanizma yoluyla hücre ölümüne yol açacağı gibi çeşitli etmenler, doğru ve güvenilir sonuçların elde edilmesi açısından dikkate alınmalıdır. Kolorimetrik metodlar genellikle sitotoksikite belirlenmesinde en sık kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerde, 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür (MTT) testi, XTT (2,3-bis-(2- metoksi- 20 4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid) testi, MTS (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5- (3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum) testi, WST (2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum) testleri gibi tetrazolyum tuzlarının kullanılarak yapıldığı renk değişikliği esasına dayalı ölçümler yapılmaktadır [123,124].

4.5.1. MTT Kolorimetrik Sitotoksosite Testi

MTT, in vitro hücre canlılığı, proliferasyonu, sitotoksosite, kemo ve radyosensitivite çalışmaları için en yaygın kullanılan metotlardan biridir [125]. Bu tahlil, temel olarak mitokondriyal enzimlerin aktivitesini ölçer. Aynı zamanda hücrelerin mitokondriyal fonksiyonunun belirlenmesi yoluyla hücre canlılığını belirler. Bu kolorimetrik analiz, sarı tetrazolium tuzunun metabolik olarak aktif hücreler tarafından indirgenerek mor renkli formazan kristallerine dönüşmesine dayanmaktadır.



Şekil 4.5 Sarı Tetrazolium Tuzunun Mor renkli Formazana İndirgenmesi

Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) bağımlı hücresel oksidoredüktaz enzimlerinin sarı renkli MTT'yi mor renkli suda çözünmeyen formazan kristallerine indirgeme yeteneği vardır. Bu sayede canlı hücrelerin mitokondrilerinde oluşan dehidrojenazlar tarafından tetrazolium bileşiğinin suda çözünmeyen formazana enzimatik dönüşümü yoluyla hücre canlılığını ölçer. MTT analizi için ortamdaki suda çözünmeyen formazanı çözmesi için çözücü olarak DMSO (dimetil sülfoksit), asitleştirilmiş etanol veya sodyum dodesil sülfat (SDS) kullanılır. Oluşan renkli çözeltinin absorbansı bir spektrofotometre ile belirli bir dalga boyunda (500-600 nm) ölçülebilir. Elde edilen mor renkli çözeltinin rengi ne kadar koyu olursa, canlı ve metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı da o kadar fazla demektir. Mitokondriyal fonksiyonu bozulmuş veya ölmüş hücreler boyanmamaktadır [126,127]. MTT'nin dezavantajı çözücü olarak genellikle tercih edilen DMSO'nun hücreler üzerine olan toksik etkisidir, bu da test güvenilirliğini azaltmaktadır [128].

5.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler, firmaları ve Cas numaraları Tablo 5.1' de gösterilmiştir.

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler, firmalar ve Cas numaraları

Kullanılan Madde	Firma Adı	Cas Numarası
Etilaseto asetat	Alfa Aesar	141-97-9
2-Amino benzofenon	Acros Organics	2835-77-0
1-Naftaldehit	TCI	66-77-3
o-Anisalaldehit	TCI	135-02-4
1,4-Benzodioxan-6-karboksaldehit	Sigma-Aldrich	29668-44-8
1-Metilindol-3-karboksaldehit	Sigma-Aldrich	19012-03-4
3-Kinolinkarboksaldehit	TCI	13669-42-6
3-Formilfenilboronik Asit	TCI	87199-16-4
2-Aminobenzonitril	TCI	1885-29-6
2-Naftilboronik Asit	Sigma-Aldrich	32316-92-0
Paladyum(II) trifloroasetat	Sigma-Aldrich	42196-31-6
Triflorometansülfonik Asit	TCI	1493-13-6
5,5'-Dimetil-2,2'-bipiridin	Alfa Aesar	1762-34-1
2-Metiltetrahidrofuran	Merck	96-47-9
Sodyum Hidroksit	Teknik	1310-73-2
Sodyum Karbonat	Teknik	

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasal maddeler, firmalar ve Cas numaraları (devamı)

Etanol	Merck	64-17-5
Diklorometan	Teknik	75-09-2
Sodyum Sülfat	Teknik	7757-82-6
n-Hekzan	Teknik	110-54-3
Etil Asetat	Teknik	141-78-6
Silica Jel 60	Merck	
Sodyum Sülfat	Teknik	7757-82-6

5.2 Kullanılan Cihazlar Ve Gereçler

Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR):

^1H NMR, ^{13}C NMR spektrumları, kloroform-D (CDCl_3) içerisinde tetrametilsilan (TMS) standardı kullanılarak, Atatürk Üniversitesi'nde bulunan "Bruker Avance III 500" spektrometresi kullanılarak alınmıştır.

Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR):

Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Sentezi gerçekleşen ürünlerin Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrumları, Yıldız Teknik Üniversitesi Elementel Analiz Laboratuvarı'nda bulunan "Perkin Elmer Spektrum One" spektrometresi kullanılarak çekilmiştir.

Quadrupole Time of Flight (QTOF):

QTOF spektrumu, Atatürk Üniversitesi'nde bulunan Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS sistemi ile alınmıştır.

Hei-VAP Core Model Döner Buharlaştırıcı:

Bileşiklerin kolondan ayırma işlemleri sırasında ve daha sonra çözücüsünden uzaklaştırılmasında, "Hei-VAP Core" model döner buharlaştırıcı kullanılmıştır.

“Camag” (254/366 nm) UV Lamba:

Kolon kromatografisinde "Merck Silikajel 60" , floresans indikatörlü Merck 5554 silikajel tabakalar ile "Camag" (254/366 nm) UV lamba kullanılmıştır.

“Gallenkamp” Erime Noktası Tayin Cihazı:

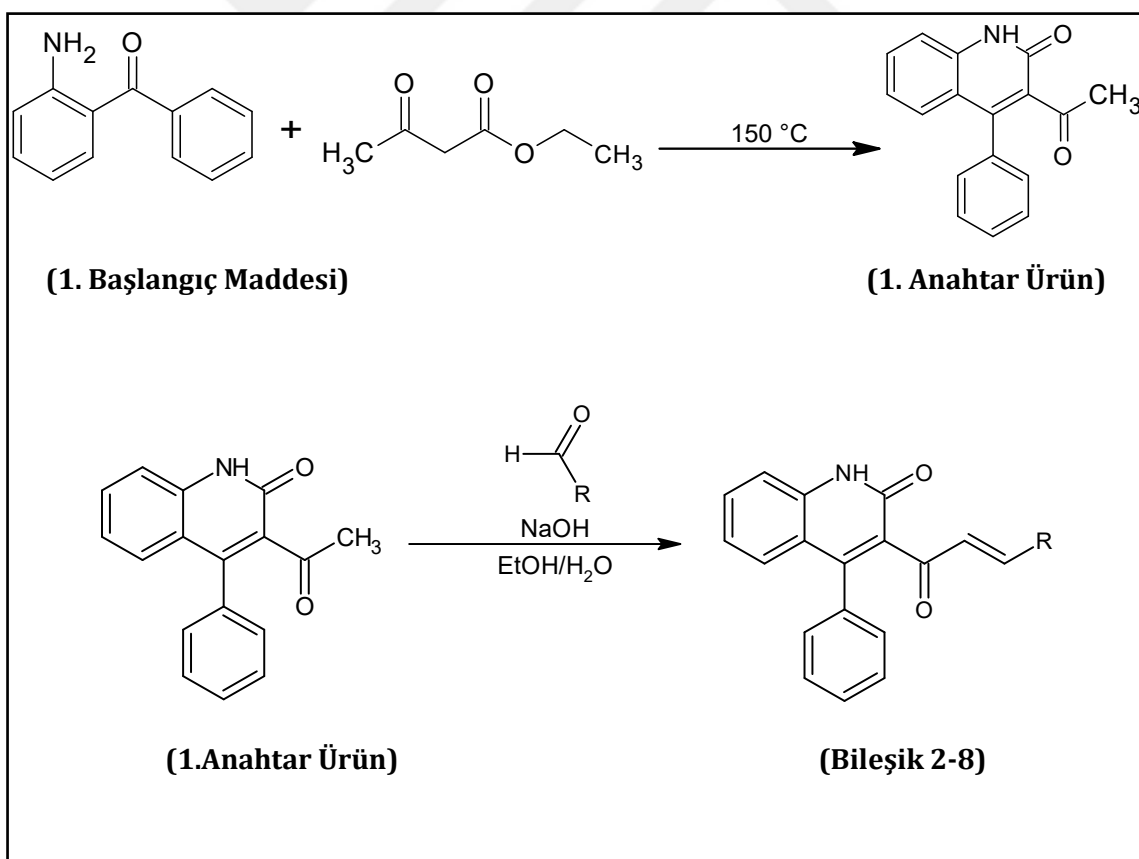
Elde edilen saf maddelerin erime noktaları açık kapiler tüplerle "Gallenkamp" dijital termometreli erime noktası cihazında tayin edilmiştir.

Sitotoksite Testi (MTT testi):

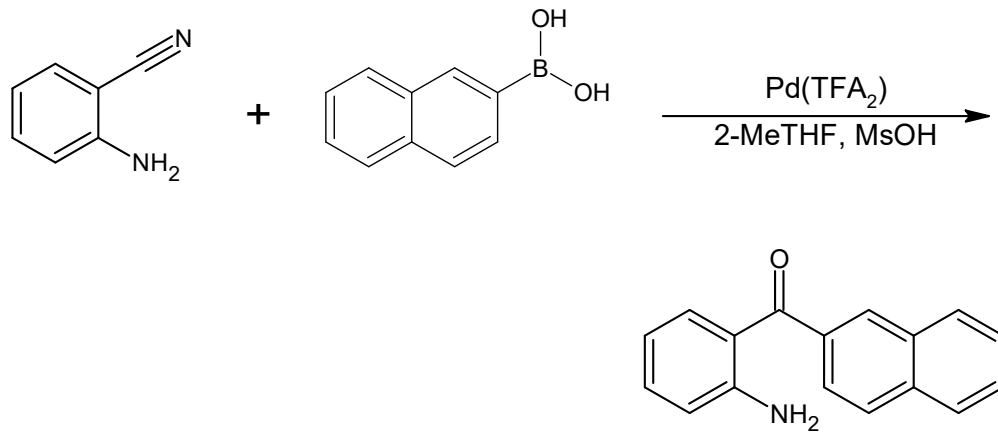
ATCC’ den (American Type Culture Collection) temin edilen MCF 7 (insan meme kanseri) hücre serisi üzerine sentezlenen bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının 24 saat uygulanması sonucunda hücrelerde meydana getirdiği sitotoksik etki, MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] ile tayin edilmiştir.

6.1 Bileşiklerin Sentezi Ve Karakterizasyonu

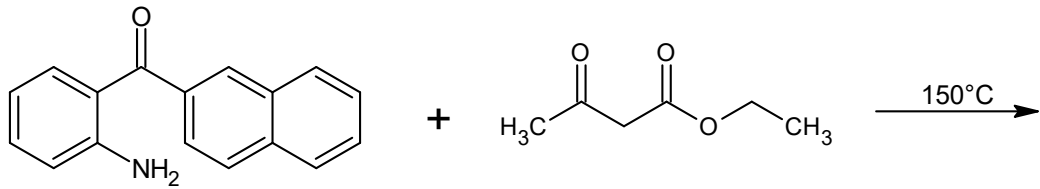
Bu çalışmada; kinolin ve kalkon hibrit bileşikleri olarak yeni fenil kinolinon molekülleri sentezlenerek karakterize edilmiştir. Hedeflenen yapıların sentezleri ilk kısımda iki basamaklı reaksiyon aşamasıyla; son kısımda ise üç basamaklı farklı bir reaksiyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. İlk basamakta amino benzofenon, etil asetoasetat ile 150°C' de 4 saat karıştırıldıktan sonra 1. anahtar ürün (Bileşik 1) elde edilmiştir. İkinci basamakta ise Bileşik 1, farklı aldehytler ile aldol kondenzasyonu reaksiyonuna sokularak hedeflenmiş olan yeni fenil kinolinon türevleri %40-%80 arasında değişen verimler ile elde edilmiştir.



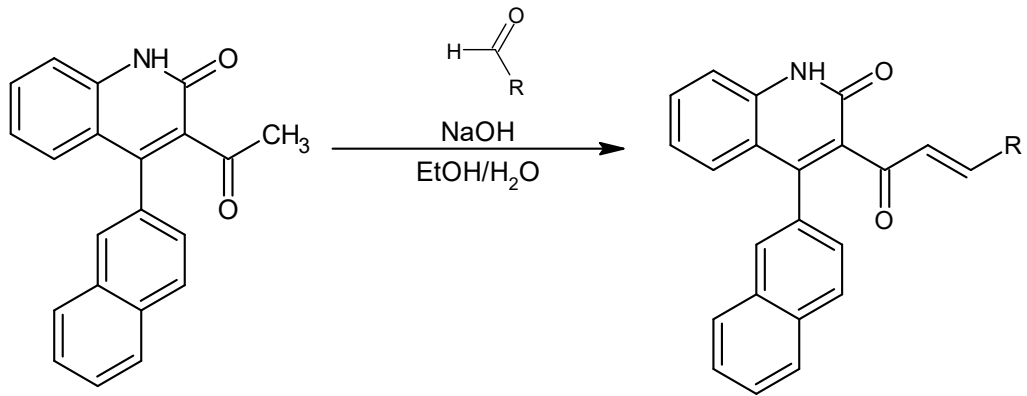
Şekil 6.1 Yeni Fenil Kinolinonların Sentez Şeması



(2. Başlangıç Maddesi)



(2. Başlangıç Maddesi)

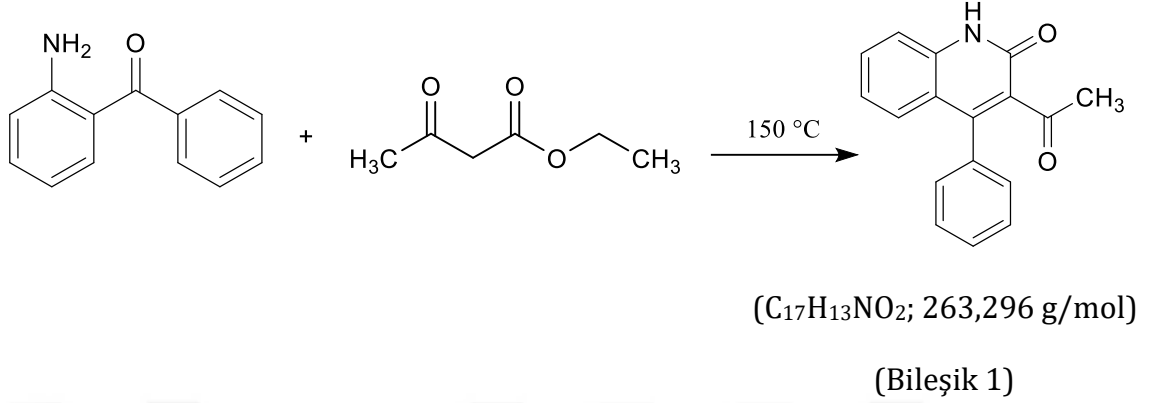


(2. Anahtar Ürün)

(Bileşik 11)

Şekil 6.1 Yeni Fenil Kinolinonların Sentez Şeması (devamı).

6.1.1 3-Asetil-4-fenilkinolin-2-on Bileşiğinin (Bileşik-1) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₁₇H₁₃NO₂; 263,296 g/mol)



Reaktifler:

20 mmol o-Aminobenzofenon

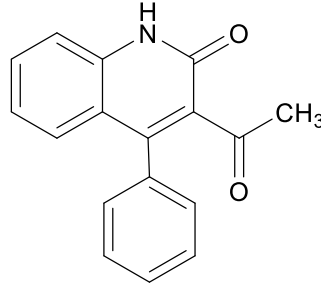
40 mmol Etilaseto asetat

Ara ürün 3-asetil-4-fenilkinolin-2-on Bileşiğinin (Bileşik-1) sentezi için, o-aminobenzofenon ve etilaseto asetat çözeltisi argon atmosferi altında 4 saat 150 °C' de ısıtılarak karıştırılmıştır. Reaksiyon sonu her saatte TLC (H: EA (5:1)) ile kontrol edilerek tamamlanacağı ana kadar takip edilmiştir. 4 saatin sonunda reaksiyonun tamamlandığı tayin edilmiştir. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra 50 mL'lik buzlu suya dökülür ve oluşan süspansiyonun içerisindeki sakızımsı çözelti sertleşene kadar su banyosunda bekletilir. Ham ürünü toplamak için çökelti su ile yıkanarak; üç defa ekstrakte edilmiştir. Su fazından ayrılan organik faz sodyum sülfat ile kurutularak süzölmüştür. Süzölen organik faz daha sonra sıcakta tam, oda koşullarında az çözdüğü keşfedilen etanol yardımıyla kristallendirme işlemine sokulmuştur. Karanlık ortamda üç gün bekletildikten sonra kristalleşmenin tamamlandığı gözlenmiştir. Ara ürünün literatürdeki erime noktası ve FTIR verileriyle kıyaslanarak doğru sentezlendiğine kanaat getirilmiştir.

Verim: 2,01 g (% 71), sarı kristal madde.

Erime Noktası: 260°C-261°C

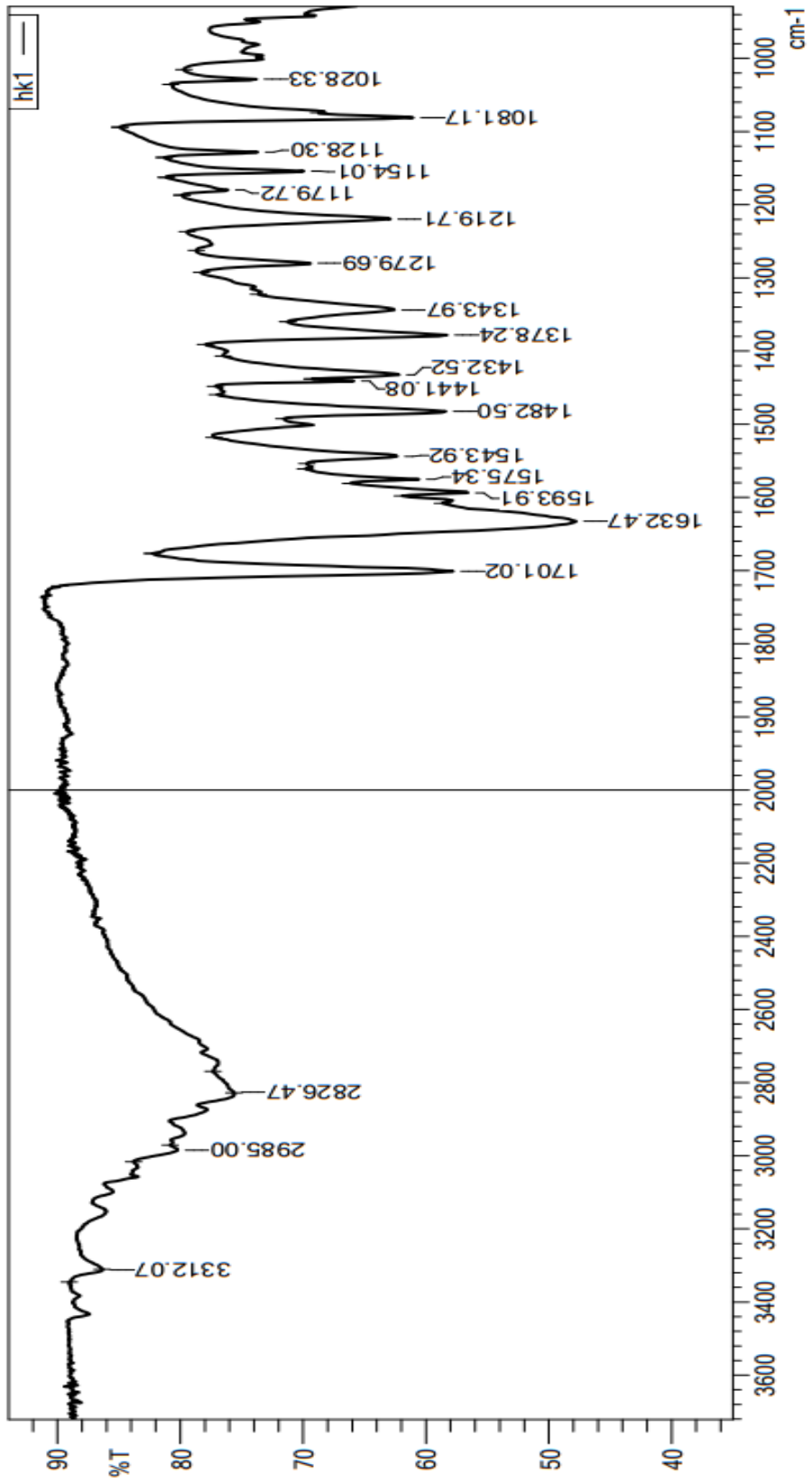
6.1.1.1 Bileşik 1'in Spektral Verileri



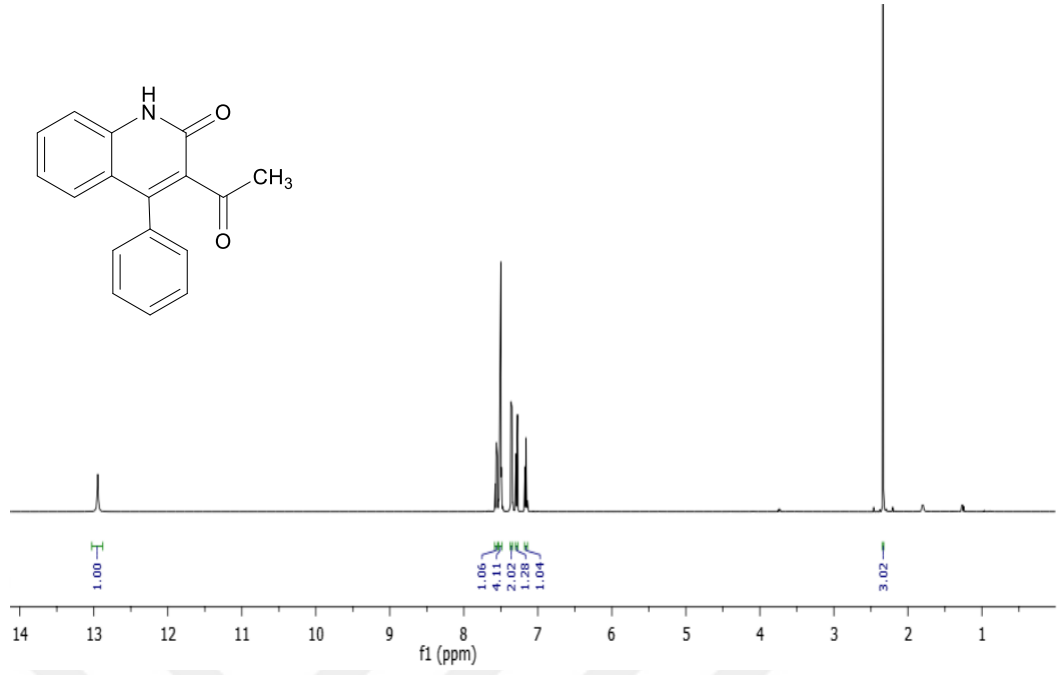
FTIR (ATR): $\nu = 3312 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 2985 (Alifatik -CH₃ gerilmeleri), 2826 (Alifatik -CH₂ gerilmeleri), 1701 (C=O gerilmeleri), 1632 (C=O düzlem içi gerilimi), 1482 (metilin şemsiye bandı) cm^{-1} 1300-1100 (C-N düzlem içi eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.2).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta(\text{ppm}) = 13.07$ (s, 1H, NH), 7.54-7.57 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H), 7.52 – 7.47 (m, 4H, Ar-H), 7.39 – 7.33 (d, $J = 10 \text{ Hz}$, 2H, Ar-H), 7.26-7.30 (d, $J = 10 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H), 7.15-7.19 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H), 2.34 (s, 3H, COCH₃).

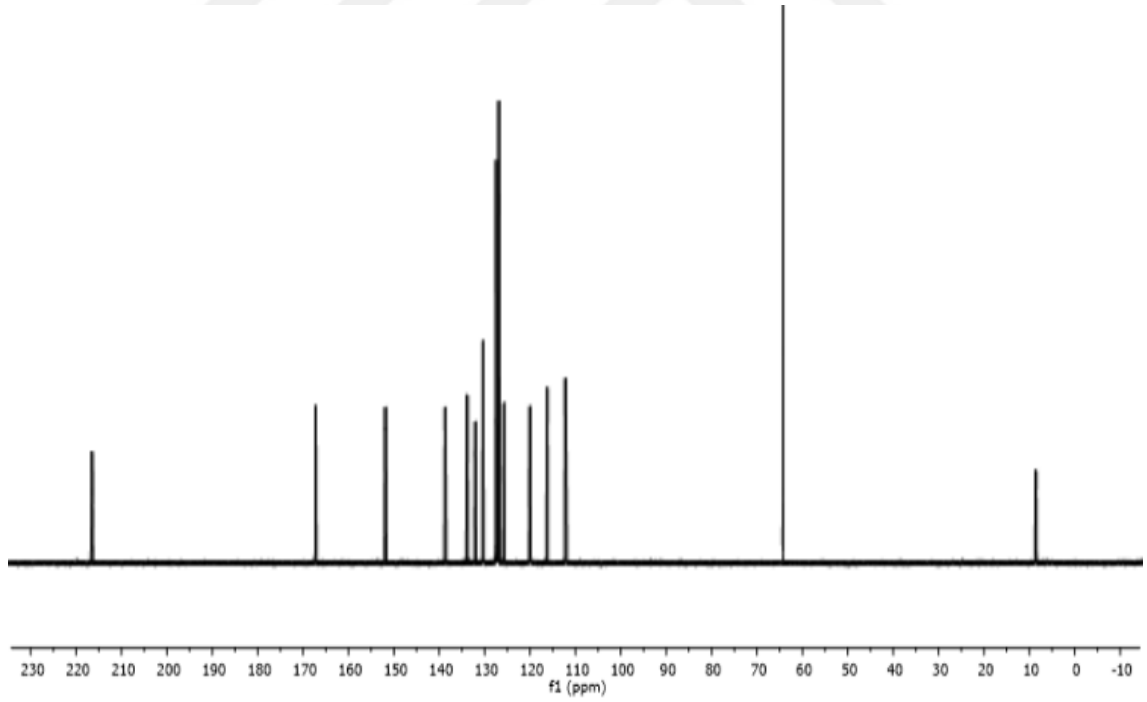
¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta(\text{ppm}) = 201.94, 161.63, 149.04, 138.29, 134.32, 132.81, 131.46, 129.02, 128.98, 128.60, 127.67, 122.99, 119.88, 116.61, 31.79$.



Şekil 6.2 Bileşik 1'in FTIR Spektrumu.



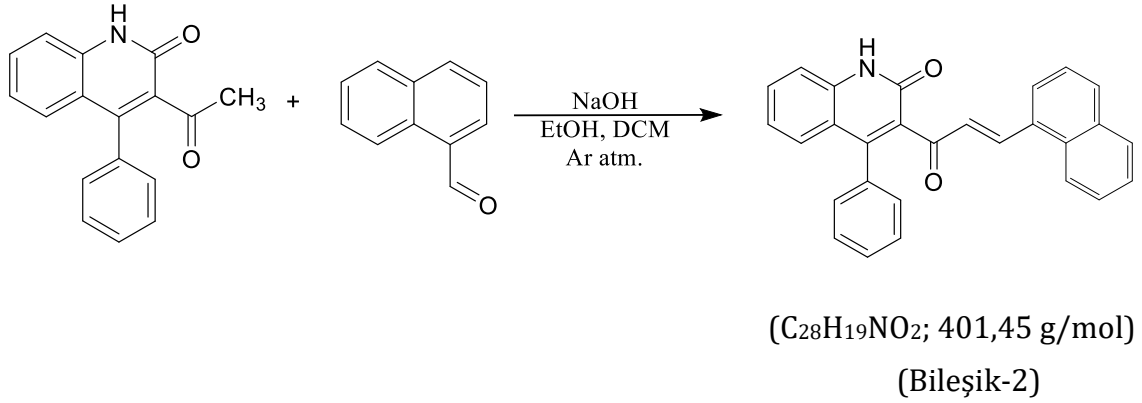
Şekil 6.3 Bileşik 1'in ¹H NMR Spektrumu



Şekil 6.4 Bileşik 1'in ¹³C NMR Spektrumu

6.1.2 3-[(2E)-3-(Naftalin-1-il)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on

Bileşiminin (Bileşik 2) Sentezi ($C_{28}H_{19}NO_2$; 401,455g/mol)



Reaktifler

0,37 mmol Bileşik-1

0,37 mmol 1-Naftaldehit

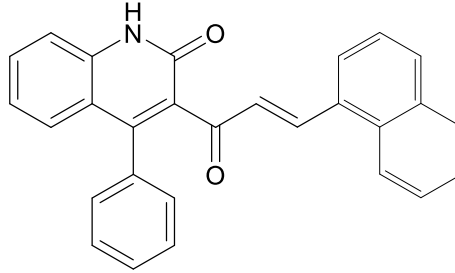
1,48 mmol NaOH

İnert atmosfer altında karıştırılmak üzere çift boyunlu bir balona, sentezlenen ara ürün Bileşik-1 (0,10g) ile eşdeğer ölçüde 1-Naftaldehit (0,057g) katılarak; üzerine eş zamanlı olarak 4 eşdeğer ölçüde 0,06g NaOH çözeltisi ile 5ml Etanol (EtOH) ve 2 ml diklorometan (DCM) eklenmiştir. Daha sonra argon gazından iki defa geçirildikten sonra reaksiyonun açık hava ile teması kesilerek oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda reaksiyon karışımı TLC (H: EA (1:1)) ile kontrol edilerek sonlandırılmış, %10' luk HCl ile pH:3 olacak şekilde asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 3 kez etilasetat/su ile ekstrakte edilmiş, organik fazı sodyum sülfat ile kurutularak çözücüsü rotaryde uçurulmuştur. Ham ürün vakum altında kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilmiştir. Sentezlenen bileşimin yapısı, UV, FT-IR, QTOF, ^1H NMR, ^{13}C NMR spektroskopik analizleri yapılarak teyit edilmiştir.

Erime Noktası: 212-213 °C

Verim: 1,133g (%89), sarı katı madde

6.1.2.1 Bileşik 2'nin Spektral Verileri



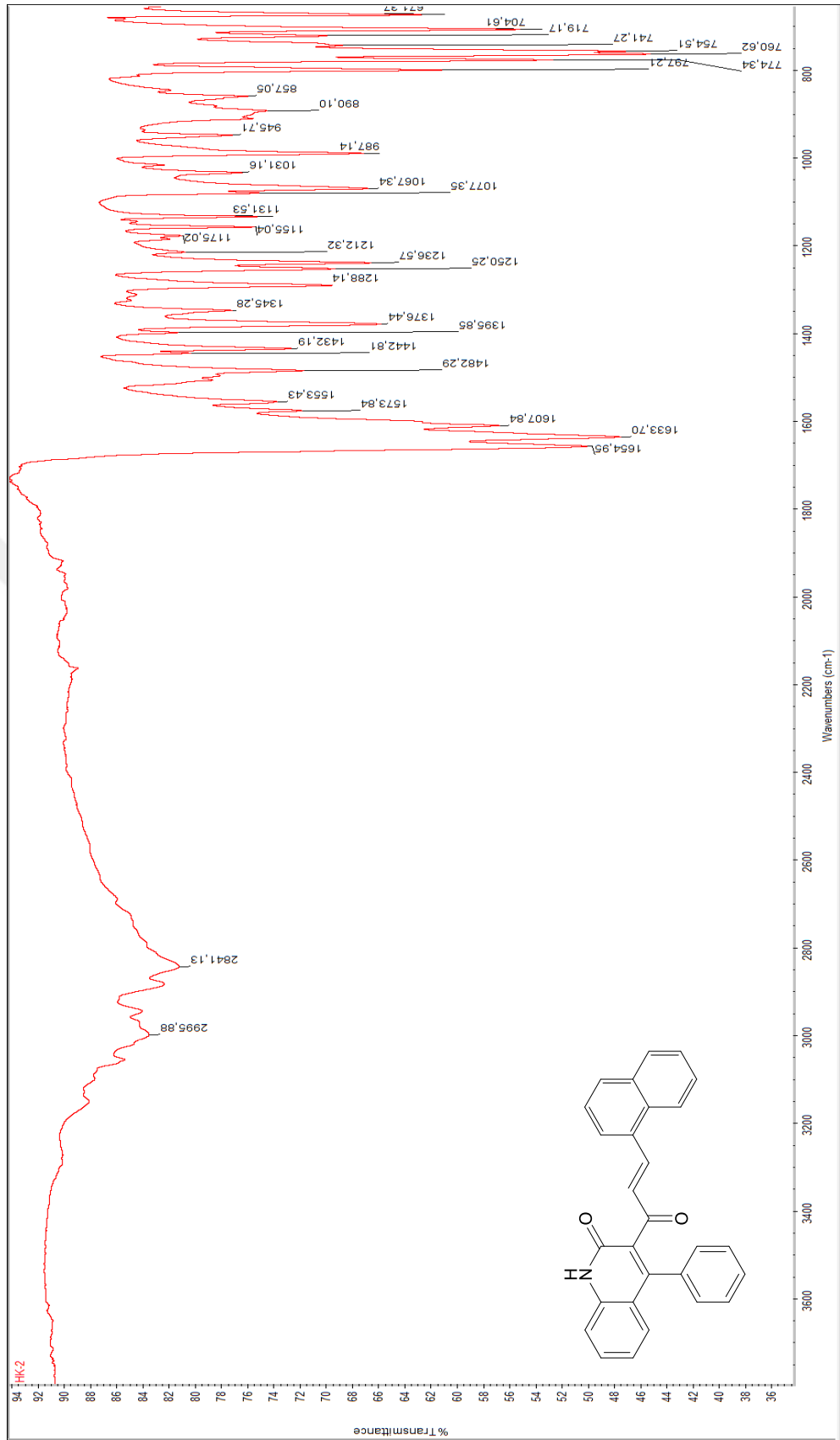
Şekil 6.5 Bileşik 2'nin molekül yapısı

FTIR (ATR): $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 2995-1841 cm^{-1} (alifatik, C-H simetrik asimetrik gerilimler), 1700 cm^{-1} civarı gelen pikler (yapıdaki fenil halkası ve buna bağlı doymamışlık overtonları), 1633 (C=O düzlem içi gerilimi) 1482-1300 cm^{-1} (metil metilene ait düzlem içi eğilimler) cm^{-1} 1300-1100 (C-N düzlem içi eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.6).

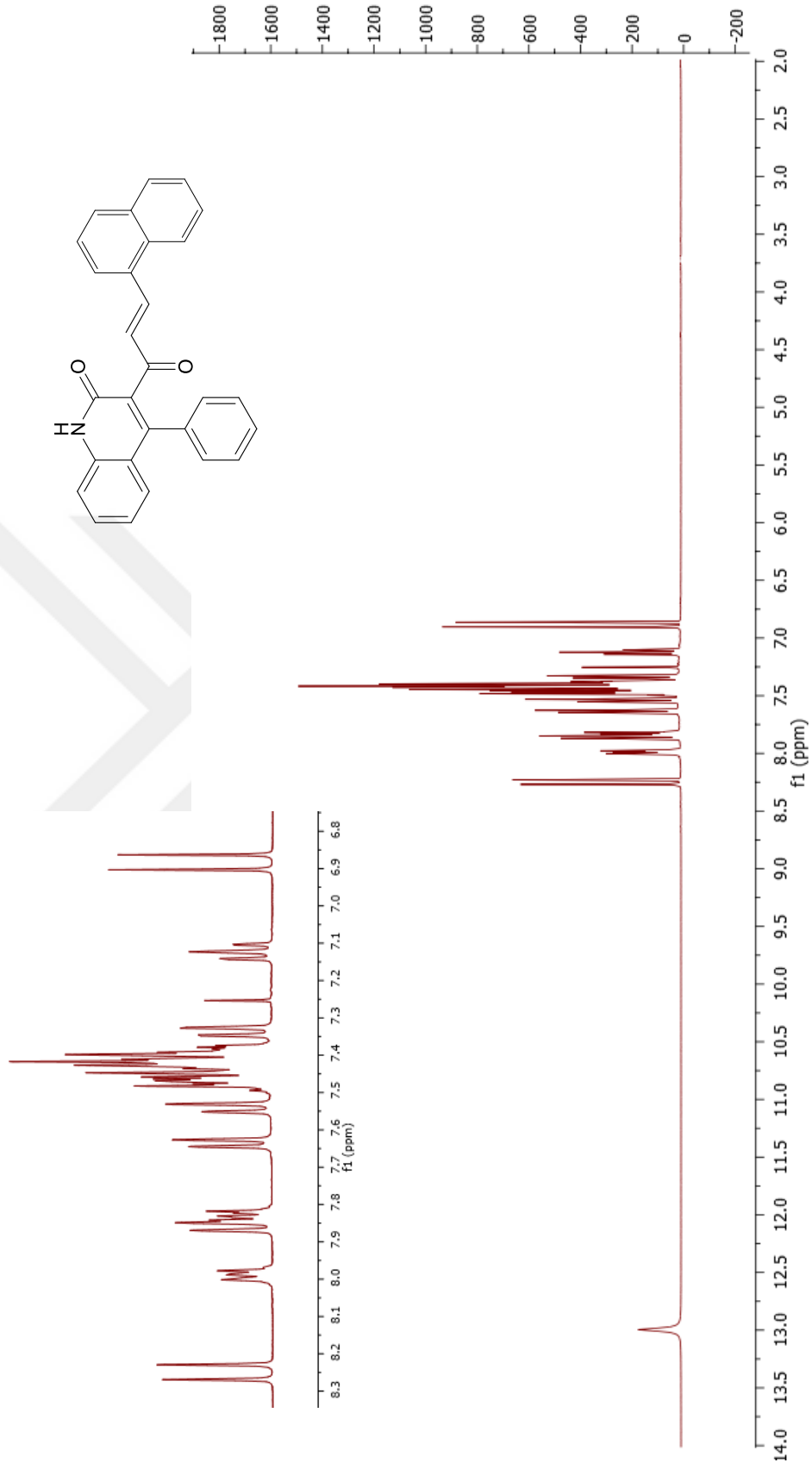
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 13.00 (s, 12H), 8.66 (d, $J = 15.7 \text{ Hz}$, 1H), 8.44 (d, $J = 15.9 \text{ Hz}$, 1H), 8.25 (d, $J = 15.9 \text{ Hz}$, 8H), 8.10 – 7.78 (m, 26H), 7.74 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.65 (t, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 9H), 7.58 – 7.30 (m, 86H), 7.29 – 7.04 (m, 13H), 6.88 (d, $J = 15.9 \text{ Hz}$, 9H), 6.69 (dd, $J = 16.0, 8.1 \text{ Hz}$, 1H), 4.41 – 4.32 (m, 1H), 3.75 (dq, $J = 14.0, 7.0 \text{ Hz}$, 4H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 193.74 (s), 162.03 (s), 150.66 (s), 142.06 (s), 138.63 (s), 134.42 (s), 133.64 (s), 131.82 (s), 131.52 (d, $J = 15.3 \text{ Hz}$), 130.94 (d, $J = 13.9 \text{ Hz}$), 130.08 (s), 129.37 (s), 128.99 (s), 128.65 (d, $J = 17.9 \text{ Hz}$), 127.63 (s), 126.94 (s), 126.26 (s), 125.43 (s), 123.36 (s), 123.03 (s), 119.90 (s), 116.95 (s), 77.40 (s), 77.08 (s), 76.76 (s).

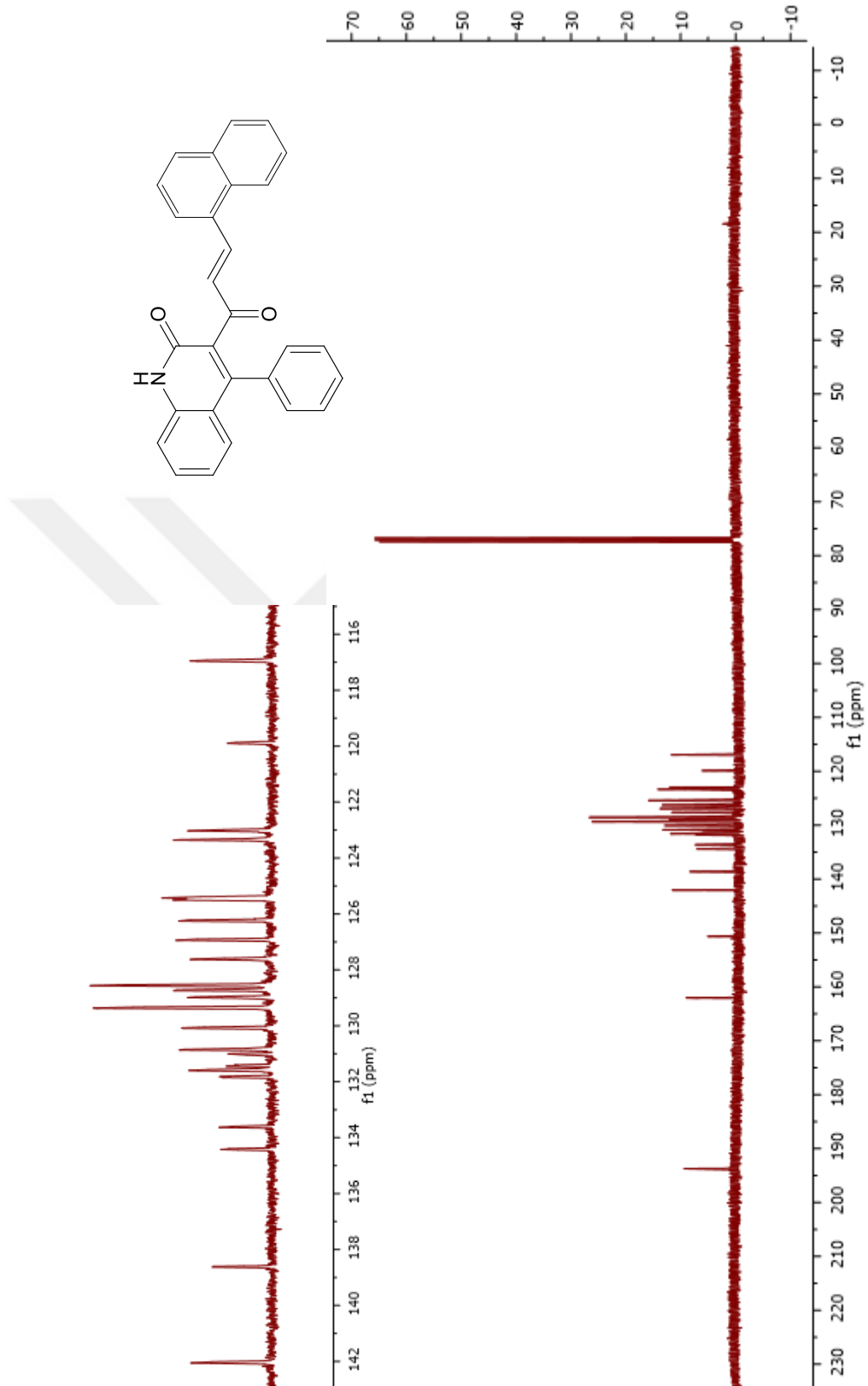
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ hesaplanan; 401,455g/mol $[\text{M}^+]$, bulunan 402,148 g/mol $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Şekil 6.10).



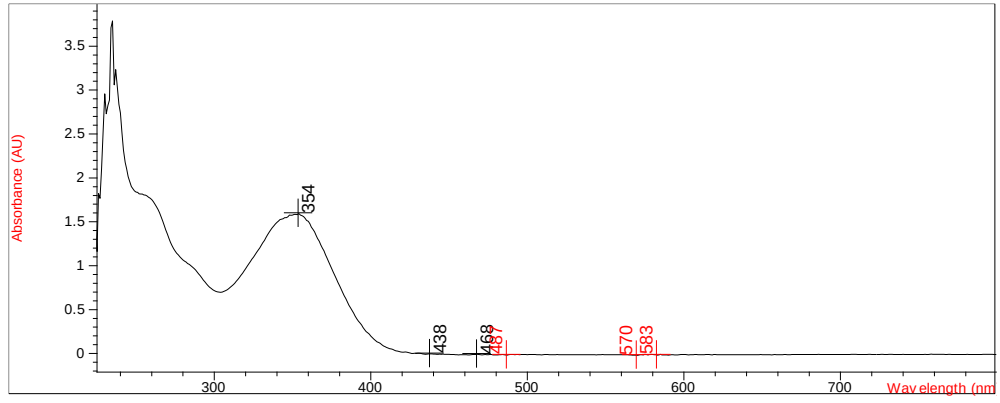
Şekil 6.6 Bileşik 2' nin FTIR Spektrumu



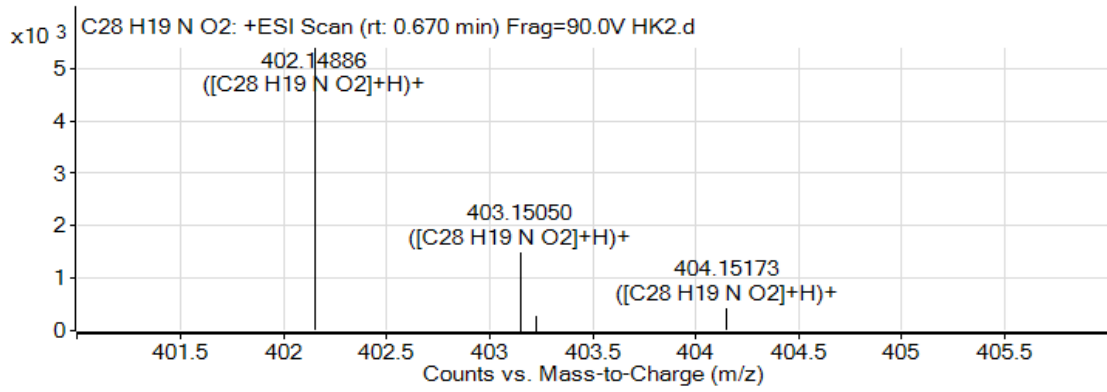
Şekil 6.7 Bileşik 2'nin ^1H NMR Spektrumu



Şekil 6.8 Bileşik 2'nin ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 6.9 Bileşik-2' nin UV Spektrumu

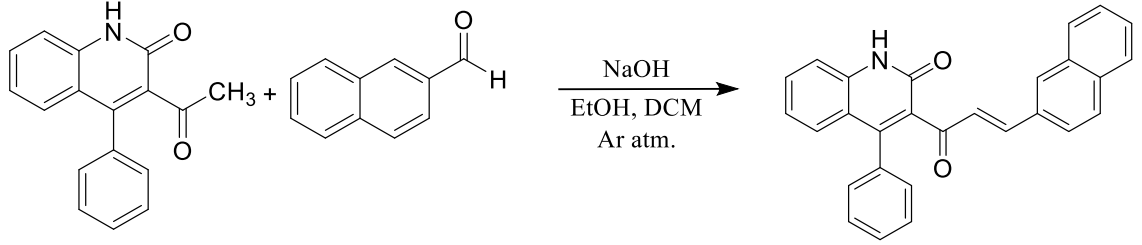


403.1505	1	1481.82	C ₂₈ H ₁₉ N O ₂	(M+H) ⁺
403.2268		257.9		
404.15173	1	415	C ₂₈ H ₁₉ N O ₂	(M+H) ⁺
406.32875		1000.43		
424.13191	1	5443.42		

Şekil 6.10 Bileşik 2'nin LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

6.1.3 3-[(2E)-3-(Naftalin-1-il)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on

Bileşiğinin (Bileşik-3) Sentezi ($C_{28}H_{19}NO_2$; 401,455g/mol)



($C_{28}H_{19}NO_2$; 401,455g/mol)

(Bileşik 3)

Reaktifler:

0,37 mmol Bileşik-1

0,37 mmol 2-Naftaldehit

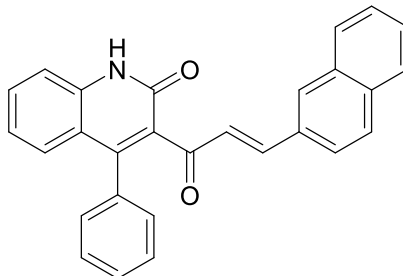
1,48 mmol NaOH

İnert atmosfer altında karıştırılmak üzere çift boyunlu bir balona, sentezlenen ara ürün Bileşik-1 (0,10g) ile eşdeğer ölçüde 2-Naftaldehit (0,057g) katılarak; üzerine eş zamanlı olarak 4 eşdeğer ölçüde 0,06g NaOH çözeltisi ile 5ml Etanol (EtOH) ve 2 ml diklorometan (DCM) eklenmiştir. Daha sonra argon gazından iki defa geçirildikten sonra reaksiyonun açık hava ile teması kesilerek oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda reaksiyon karışımı TLC (H: EA (1:1)) ile kontrol edilerek sonlandırılmış, %10' luk HCl ile pH:3 olacak şekilde asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı üç defa etilasetat/su ile ekstrakte edilmiş ve organik fazı sodyum sülfat ile kurutularak çözücüsü rotaryde uçurulmuştur. Ham ürün vakum altında kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilmiştir. Sentezlenen bileşiğin yapısı, UV, FT-IR, QTOF ve ^{13}C NMR, ^1H NMR spektroskopik analizleri yapılarak teyit edilmiştir.

Erime Noktası: 272,4-273,3 °C

Verim: 0,524g (%42), sarı katı madde

6.1.3.1 Bileşik 3'ün Spektrel Verileri



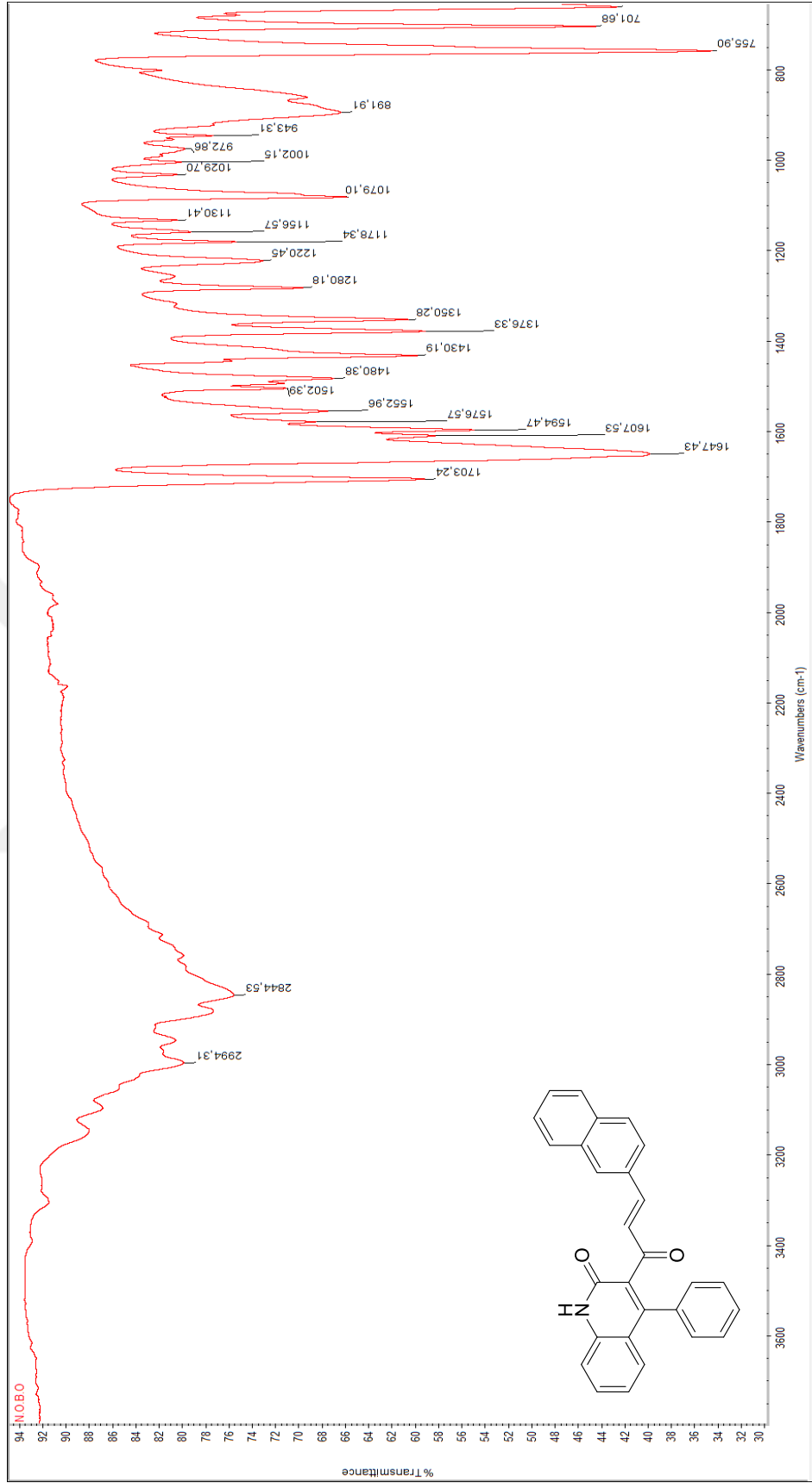
Şekil 6.11 Bileşik 3'ün molekül yapısı

FTIR (ATR): $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 2999-1844 cm^{-1} (alifatik, C-H simetrik asimetrik gerilimler), 1700 cm^{-1} civarı gelen pikler (yapıdaki fenil halkası ve buna bağlı doymamışlık overtonları), 1703 (C=C düzlem içi gerilimi), 1647 (C=O düzlem içi gerilimi) 1430-1376 (metilin şemsiye bandı) cm^{-1} 1300-1100 (C-N düzlem içi eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.12).

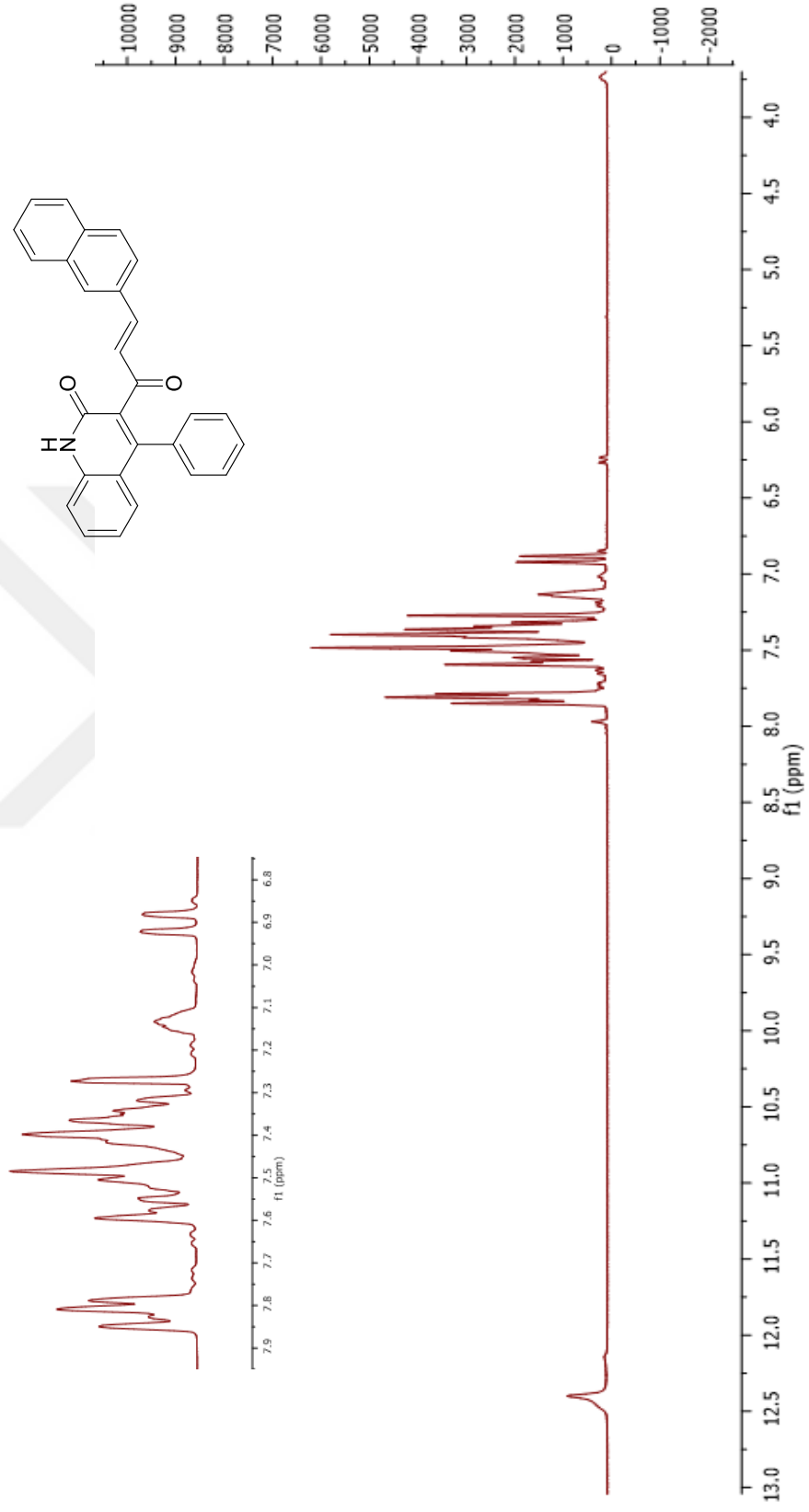
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.82 (dd, $J = 15.7, 8.6 \text{ Hz}$, 108H), 7.73 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 6H), 7.68 – 7.49 (m, 104H), 7.49 – 7.23 (m, 274H), 16.47 – 12.17 (m, 102H), 7.17 (dd, $J = 23.7, 6.6 \text{ Hz}$, 40H), 7.03 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 5H), 6.88 (t, $J = 14.4 \text{ Hz}$, 33H), 6.25 (d, $J = 12.7 \text{ Hz}$, 6H), 3.74 (s, 5H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 194.16 (s), 161.92 (s), 145.93 (s), 138.61 (s), 134.50 (d, $J = 4.2 \text{ Hz}$), 132.11 (s), 131.68 (s), 131.00 (d, $J = 14.0 \text{ Hz}$), 129.32 (s), 128.91 (d, $J = 25.1 \text{ Hz}$), 128.64 (s), 127.56 (dd, $J = 61.9, 42.5 \text{ Hz}$), 123.76 (s), 123.13 (s), 116.81 (s), 77.51 (s), 77.03 (d, $J = 32.0 \text{ Hz}$), 76.79 – 76.21 (m).

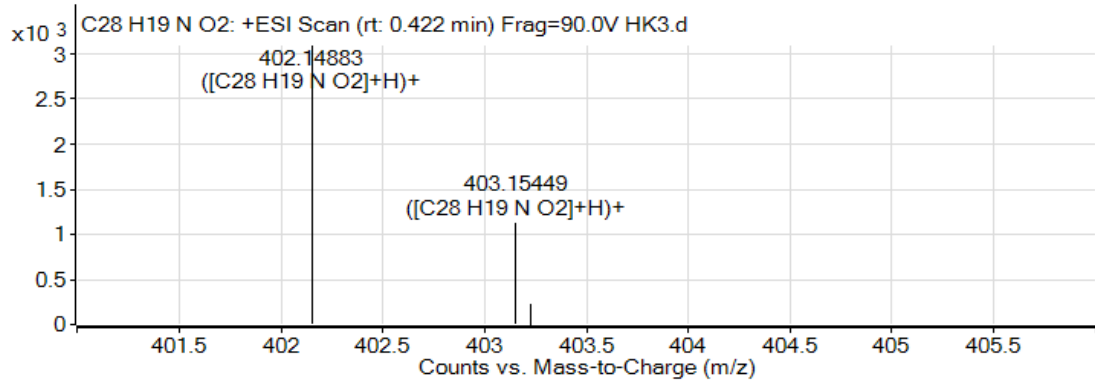
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ hesaplanan; 401,455 g/mol $[\text{M}^+]$, bulunan 402,148 g/mol $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Şekil 6.15).



Şekil 6.12 Bileşik 3'ün FTIR Spektrumu

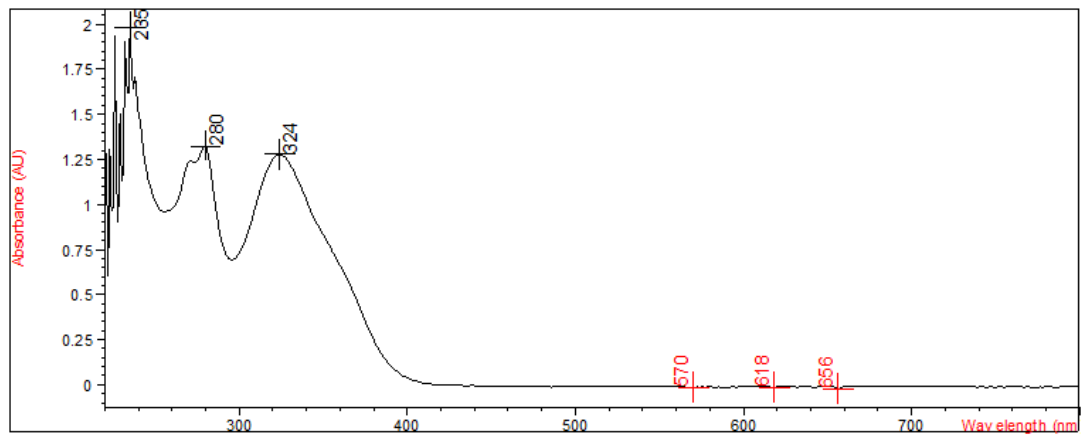


Şekil 6.13 Bileşik-3'ün ^1H NMR Spektrumu



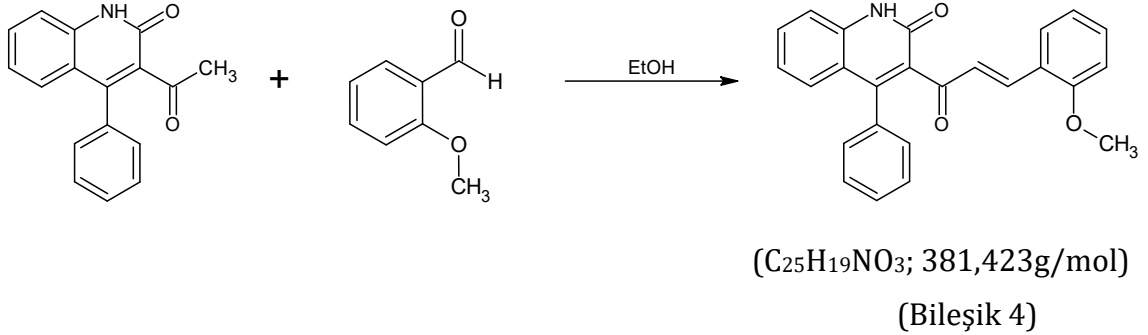
298.13452	1	1222.54		
299.13662	1	420.5		
338.34207		320.15		
384.34945		288.67		
402.14883	1	3097	C28 H19 N O2	(M+H)+
403.15449	1	1124.47	C28 H19 N O2	(M+H)+

Şekil 6.15 Bileşik 3'ün LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu



Şekil 6.16 Bileşik 3'ün UV Spektrumu

6.1.4 3-[(2E)-3-(2-Metoksi fenil)prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on
Bileşiminin (Bileşik 4) Sentezi (C₂₅H₁₉NO₃; 381,423g/mol)



Reaktifler:

0,37 mmol Bileşik-1

0,37 mmol o-Anisaldehit

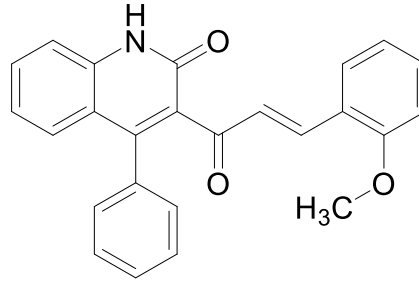
1,48 mmol NaOH

Çift boyunlu bir balonda, 0,10g Bileşik-1 ara ürünü ile aynı eşdeğerde 0,055g o-anisaldehit ve 4 eşdeğer (0,059g) NaOH çözeltisi (5:2) ml EtOH/su ile çözündürülerek Argon atmosferi altında bir gece boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. Reaksiyon sonu TLC (H:EA(5:2)) ile tayin edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon balonuna pH:3 olacak şekilde 6-7 damla %10'luk HCl damlatılarak asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon metodu ile (3×8) ml'lik saf su ile yıkama işlemi yapılmış, etil asetat yardımıyla organik faz su fazından ayrılarak sodyum sülfat ile kurutulmuştur. Organik fazın çözücüsü rotary'de uçurulmuş, ham madde EtOH ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

Erime Noktası: 266,6-268,8°C

Verim: 0,154g (%54); krem katı madde

6.1.4.1 Bileşik 4'ün Spektral Verileri



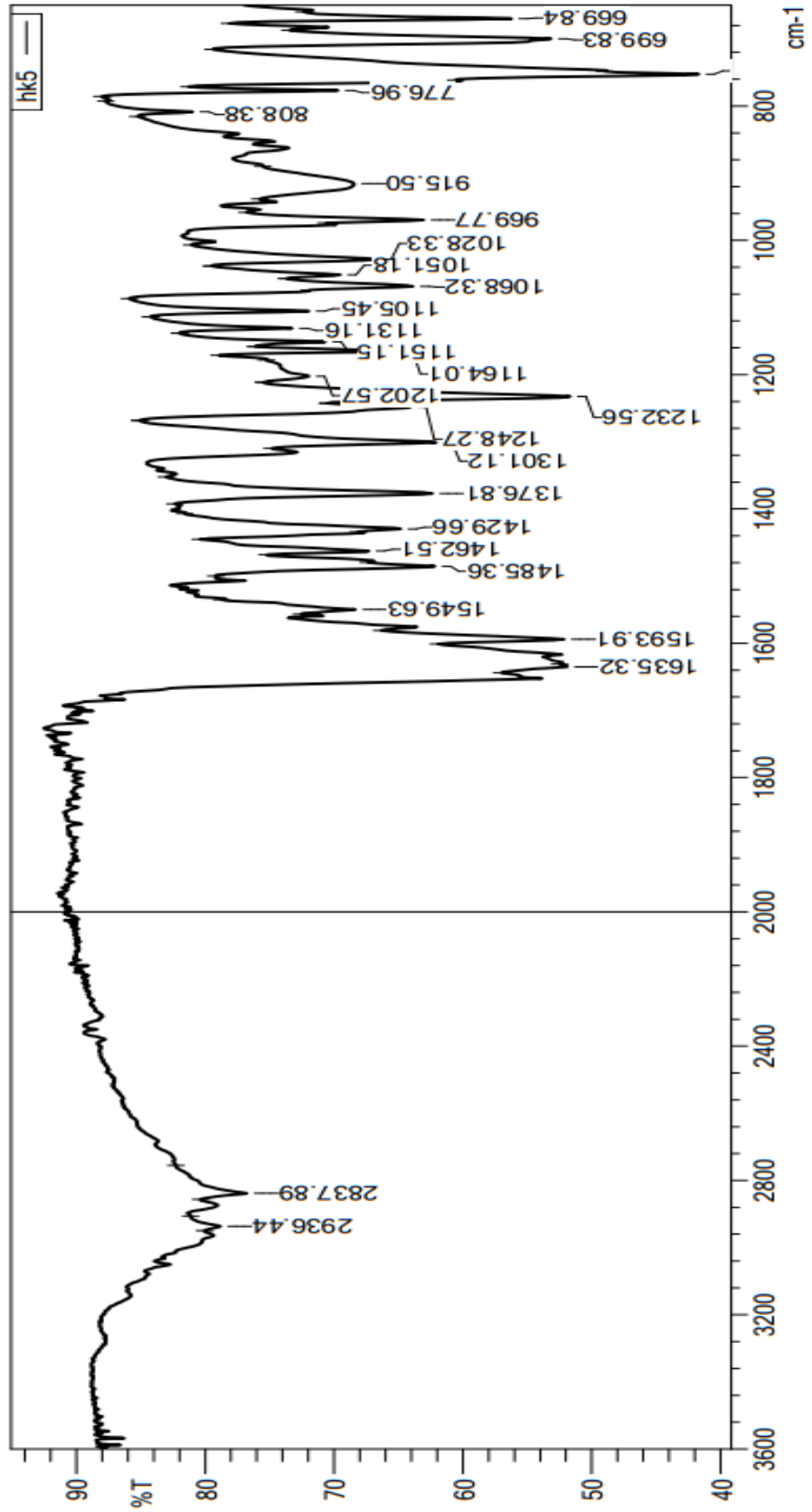
Şekil 6.17 Bileşik 4'ün Molekül Yapısı

FTIR (ATR): $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 2936 (Alifatik -CH₃ gerilmeleri), 2837 (Alifatik -CH₂ gerilmeleri), 1700 cm^{-1} civarı gelen pikler (yapıdaki fenil halkası ve buna bağlı doymamışlık overtonları), 1635 (C=O düzlem içi gerilimi), 1429-1375 cm^{-1} (CH₂-CH₃ düzlem içi eğilimleri), cm^{-1} 1300-1100 (C-N düzlem içi eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.18).

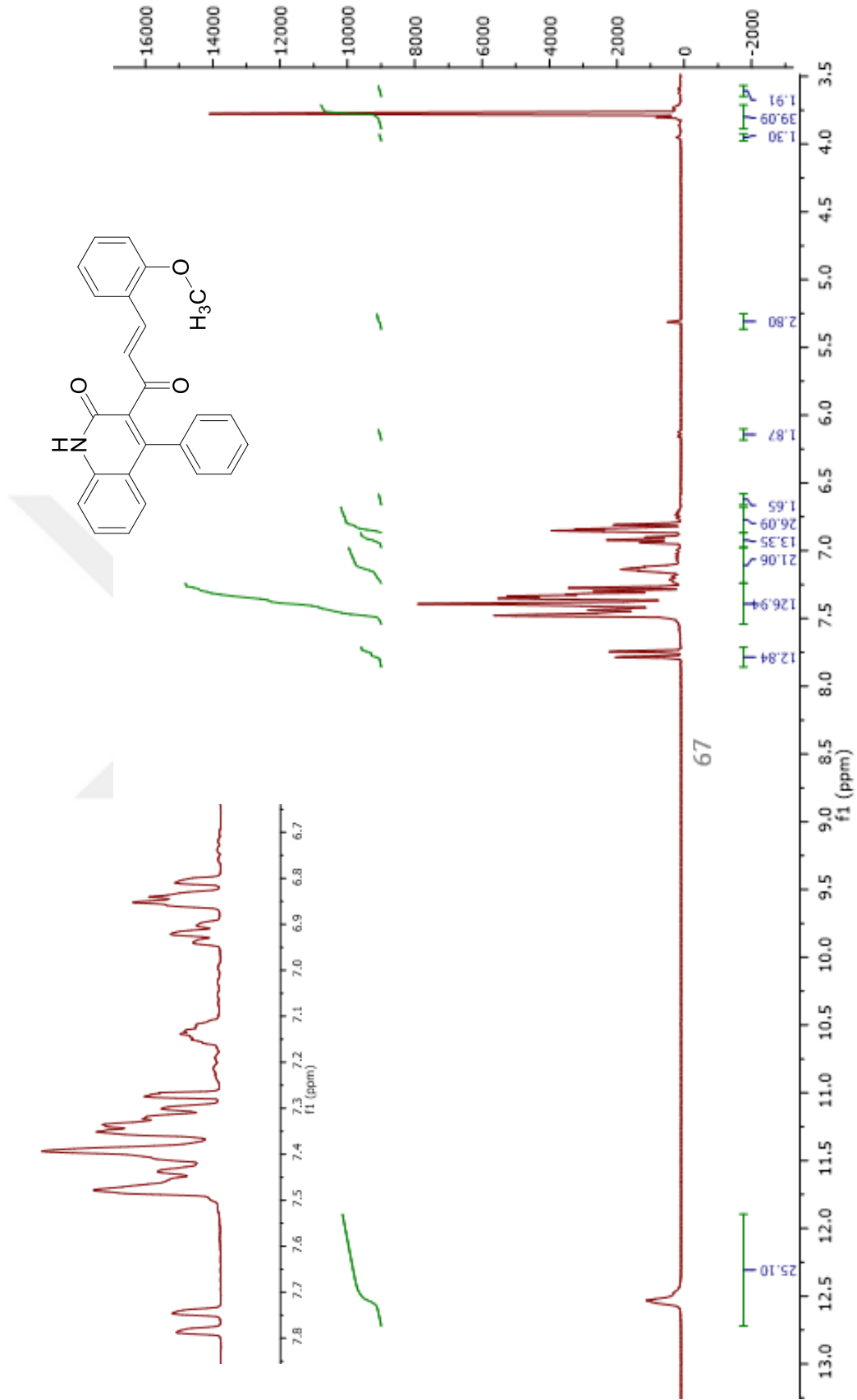
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.53 (s, 25H), 7.77 (d, $J = 16.4 \text{ Hz}$, 13H), 7.54 – 7.24 (m, 127H), 7.24 – 6.98 (m, 21H), 6.91 (dd, $J = 18.3, 11.0 \text{ Hz}$, 13H), 6.87 – 6.68 (m, 26H), 6.62 (d, $J = 12.7 \text{ Hz}$, 2H), 6.14 (d, $J = 12.3 \text{ Hz}$, 2H), 5.31 (s, 3H), 3.95 (s, 1H), 3.89 – 3.71 (m, 39H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 194.88 (s), 162.01 (s), 158.49 (s), 141.56 (s), 138.56 (s), 134.51 (s), 132.08 (s), 131.25 (d, $J = 19.1 \text{ Hz}$), 129.40 (s), 128.82 (s), 128.46 (s), 128.13 (s), 127.61 (s), 123.19 (d, $J = 56.9 \text{ Hz}$), 120.72 (s), 120.08 (s), 116.92 (s), 111.12 (s), 77.46 (s), 76.98 (d, $J = 31.9 \text{ Hz}$), 76.80 – 76.42 (m), 55.49 (s).

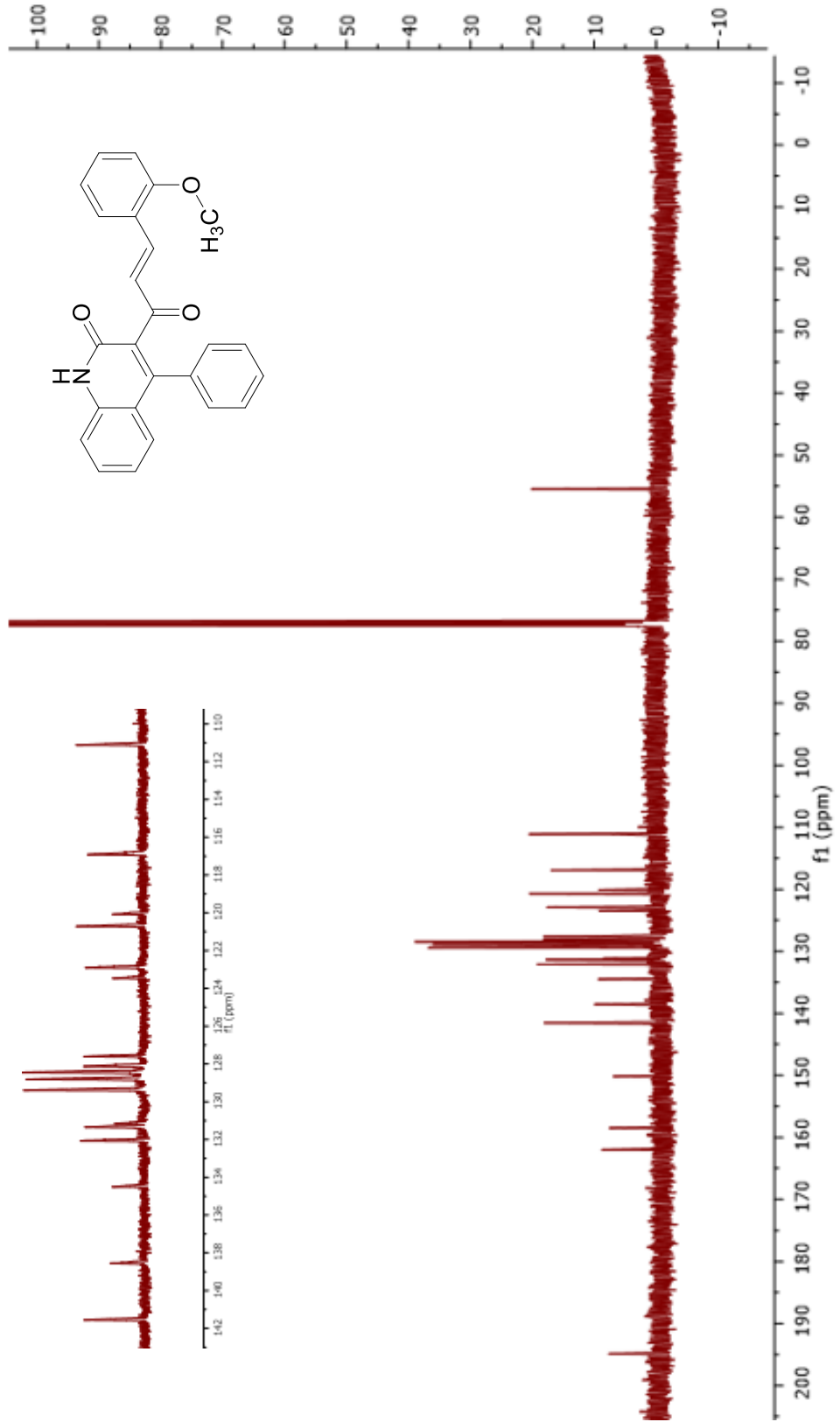
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ hesaplanan; 381,423g/mol [M+], bulunan 382,143 g/mol [M+H]⁺ (Şekil 6.22).



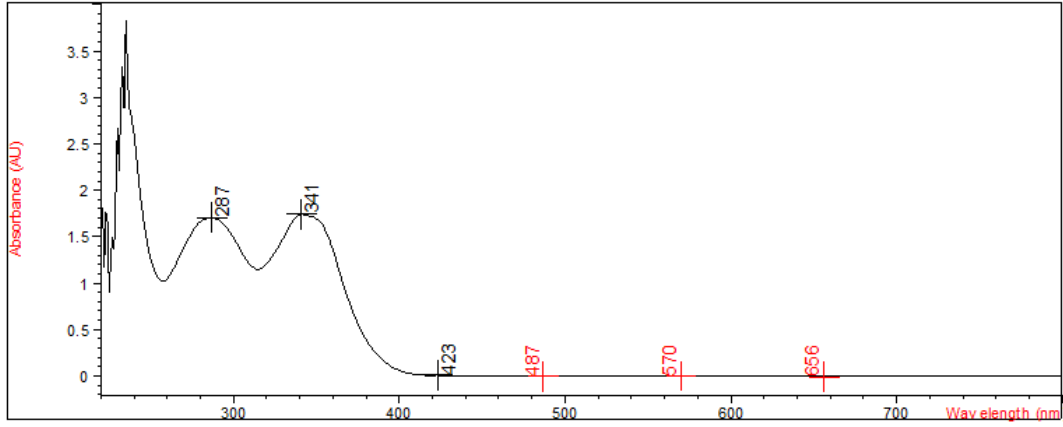
Şekil 6.18 Bileşik 4'ün FTIR Spektrumu



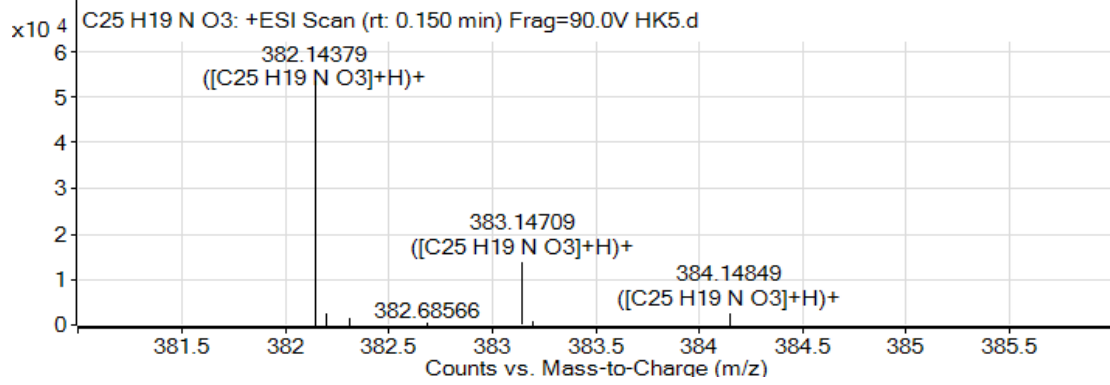
Şekil 6.19 Bileşik 4'ün ^1H NMR Spektrumu



Şekil 6.20 Bileşik 4'ün ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 6.21 Bileşik 4'ün UV Spektrumu

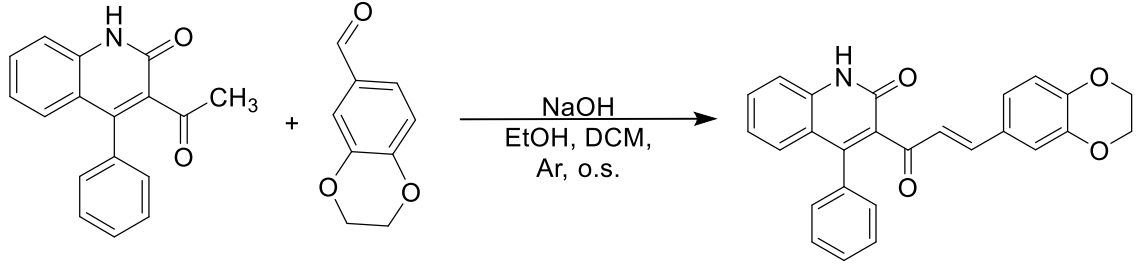


Peak List

<i>m/z</i>	<i>z</i>	Abund	Formula	Ion
382.14379	1	53541.21	C ₂₅ H ₁₉ N O ₃	(M+H) ⁺
382.19906	2	2385.73		
382.31241	1	1441.86		
382.68566	2	212.95		
383.14709	1	13613.54	C ₂₅ H ₁₉ N O ₃	(M+H) ⁺
383.19824	2	785.03		
383.31911	1	242.6		
384.14849	1	2227.76	C ₂₅ H ₁₉ N O ₃	(M+H) ⁺
404.1239		205.7		

Şekil 6.22 Bileşik 4'ün LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

6.1.5 3-[(2E)-3-(2,3-dihidro-1,4-benzodioksin-6-il)prop-2-enol]-4-fenil kinolin-2(1H)-on Bileşiğinin (Bileşik-5) Sentezi (C₂₆H₁₉NO₄; 409,433g/mol)



(C₂₆H₁₉NO₄; 409,433g/mol)

(Bileşik 5)

Reaktifler:

0,37 mmol Bileşik-1

0,37 mmol 1,4-Benzodioksan-6-karboksaldehit

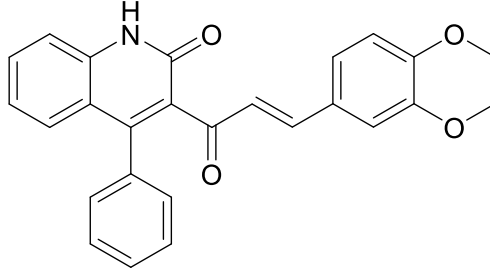
1,48 mmol NaOH

İnert atmosfer altında oda sıcaklığında çift boyunlu bir balona, 0,10g Bileşik-1 (1 eşdeğer), 0,06g 1,4-Benzodioksan-6-karboksaldehit (1 eşdeğer), 0,06g NaOH (4 eşdeğer) ile 5ml EtOH/4 ml su eklenerek gece boyunca karışmaya bırakılmıştır. Reaksiyon balonuna pH:3 olacak şekilde 6-7 damla %10'luk HCl damlatılarak asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. (3×8) ml saf su ile yıkama ve ayırma işleminden sonra ham ürün süzülerek EtOH ile kristallendirme yapılmıştır.

Erime Noktası: 230,8-231,8°C

Verim: 0,16g (%74), sarı katı madde.

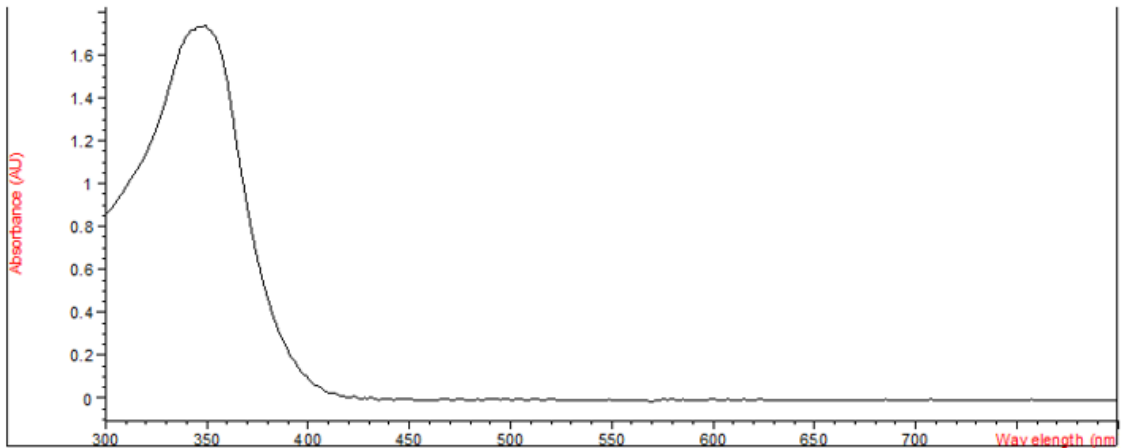
6.1.5.1 Bileşik 5'in Spektral Verileri



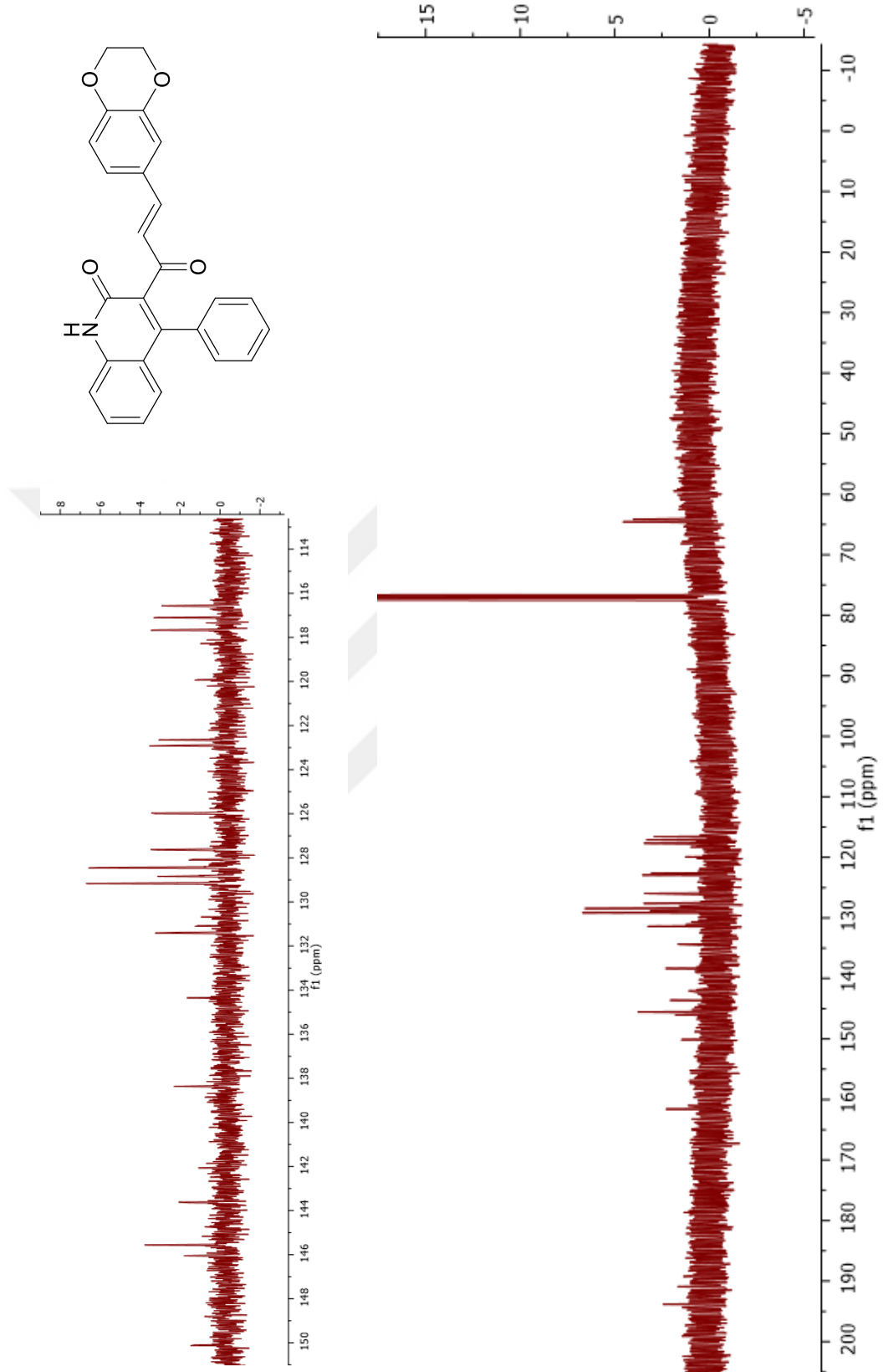
Şekil 6.23 Bileşik 5'in Molekül Yapısı

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12.11 (s, 58H), 7.54 – 7.22 (m, 464H), 7.17 – 7.08 (m, 52H), 7.02 – 6.90 (m, 96H), 6.80 (d, *J* = 8.2 Hz, 47H), 6.61 (d, *J* = 16.1 Hz, 50H), 4.35 – 4.14 (m, 190H), 3.75 – 3.70 (m, 5H), 1.61 (s, 164H), -2.50 (t, *J* = 102.6 Hz, 247H), -2.50 (t, *J* = 102.6 Hz, 196H).

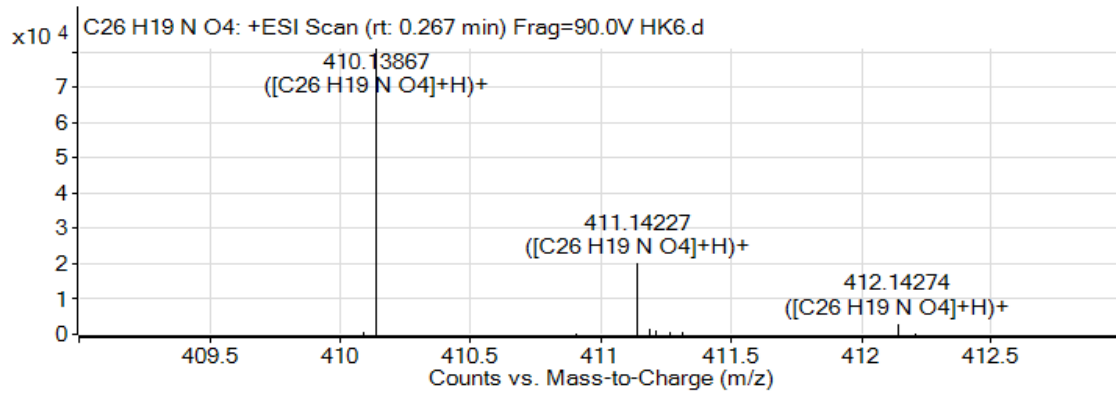
LC-MS (ESI-QTOF): *m/z* = C₂₈H₁₉NO₂ hesaplanan; 409,433 g/mol [M⁺], bulunan 410,138 g/mol [M+H]⁺ (Şekil 6.27).



Şekil 6.24 Bileşik 5'in UV Spektrumu



Şekil 6.26 Bileşik 5'in ^{13}C NMR Spektrumu

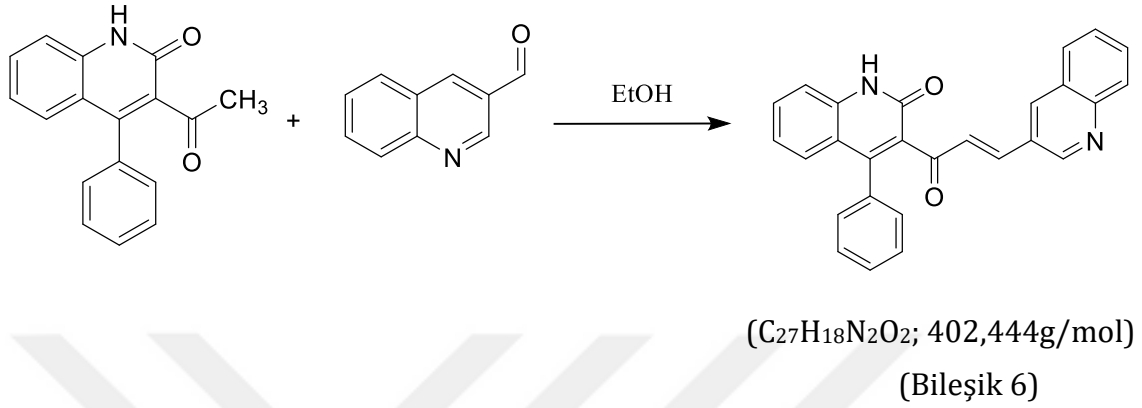


Peak List

m/z	z	Abund	Formula	Ion
102.09188		724.77		
253.04668		458.62		
253.56822	2	529.06		
382.1412	1	675.78		
410.13867	1	80795.44	C26 H19 N O4	(M+H)+
411.14227	1	20082.18	C26 H19 N O4	(M+H)+
411.18877		1188.01		
411.21383		959.57		
411.31348		476.99		
412.14274	1	2857.99	C26 H19 N O4	(M+H)+

Şekil 6.27 Bileşik 5'in LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

6.1.6 4-Fenil-3-[(2E)-3-(kinolin-3-il)prop-2-enol]kinolin-2(1H)-on Bileşiğinin (Bileşik-6) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₂₇H₁₈N₂O₂; 402,444g/mol)



Reaktifler:

0,74 mmol Bileşik-1

0,74 mmol 3-kinolinkarboksaldehit

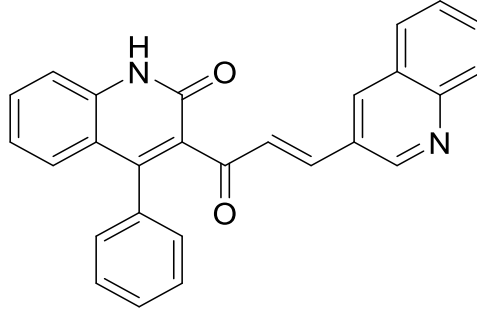
2,96 mmol NaOH

İnert atmosfer altında oda sıcaklığında çift boyunlu bir balona, 0,20g Bileşik-1(1 eşdeğer), 0,127g 3-kinolinkarboksaldehit (1 eşdeğer), 0,12g NaOH (4 eşdeğer) ile 10ml EtOH/4 ml DCM eklenerek gece boyunca karışmaya bırakılmıştır. Reaksiyon renginin sarıdan siyaha döndüğü gözlenmiştir. 24 saat sonunda TLC (H:EA (2:5)) ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon balonuna pH:3 olacak şekilde 8 damla %10'luk HCl damlatılarak asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon metodu ile (3×8) ml'lik saf su ile yıkama işlemi yapılmış, etil asetat yardımıyla organik faz su fazından ayrılarak sodyum sülfat ile kurutulup, çözücüsü rotaryde uçurulmuştur. Madde Etil Asetat/Hekzan ile kristallendirilmeye çalışılıp yeterli saflığa ulaşamadığı için kolon kromatografisine başvurulmuştur. %35'lik (EA/H) filtre kolonundan süzülerek saflaştırılmıştır.

Erime Noktası: 254,4-255°C

Verim: 0,152g (%55), Turuncu katı madde.

6.1.6.1 Bileşik 6'nın Spektral Verileri

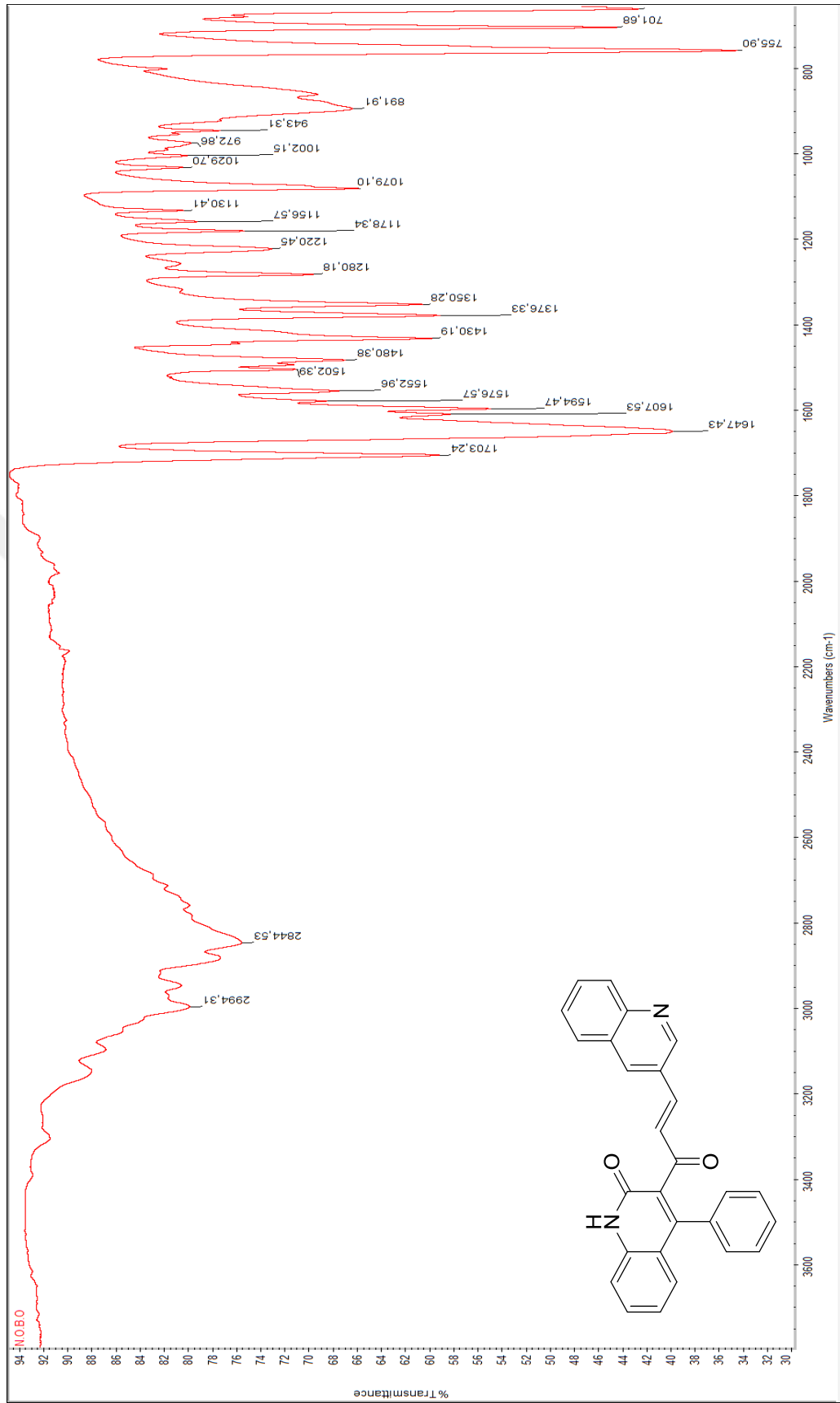


Şekil 6.28 Bileşik 6'nın Molekül Yapısı

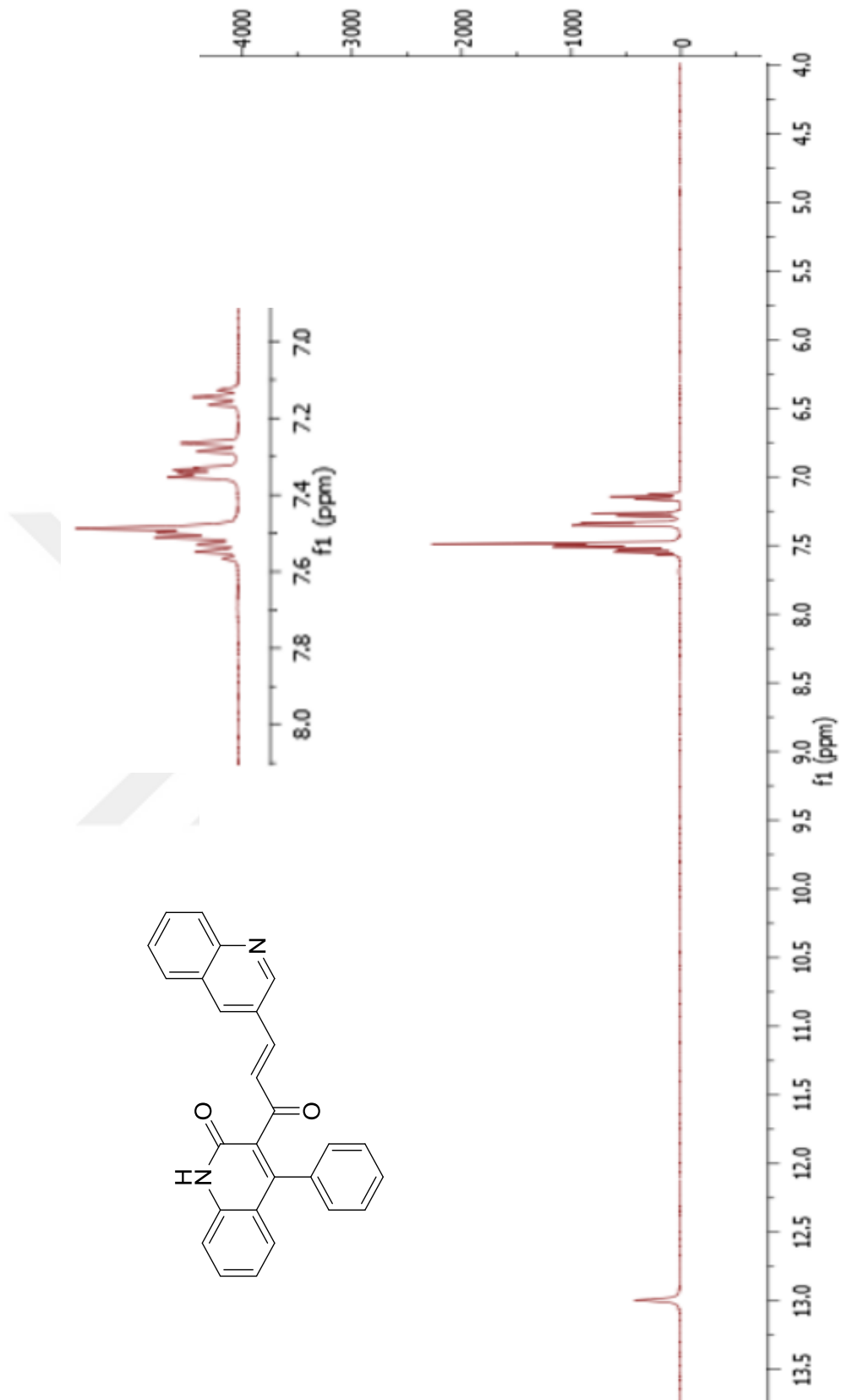
FTIR (ATR): $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik $=\text{C-H}$ gerilimleri), 2999-1844 cm^{-1} (alifatik, C-H simetrik asimetrik gerilimler), 1700 cm^{-1} civarı gelen pikler (yapıdaki fenil halkası ve buna bağlı doymamışlık overtonları), 1703 (C=O düzlem içi gerilimi), 1647 (C=O düzlem içi gerilimi) 1430-1376 (metilin şemsiye bandı) cm^{-1} , 1300-1100 cm^{-1} (C-N düzlem içi eğilimleri) (Şekil 6.29).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 13.07$ (s, 1H, NH), 7.54-7.57 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H), 7.52 – 7.47 (m, 4H, Ar-H), 7.39 – 7.33 (d, $J = 10 \text{ Hz}$, 2H, Ar-H), 7.26-7.30 (d, $J = 10 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H), 7.15-7.19 (t, $J = 7.5 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H).

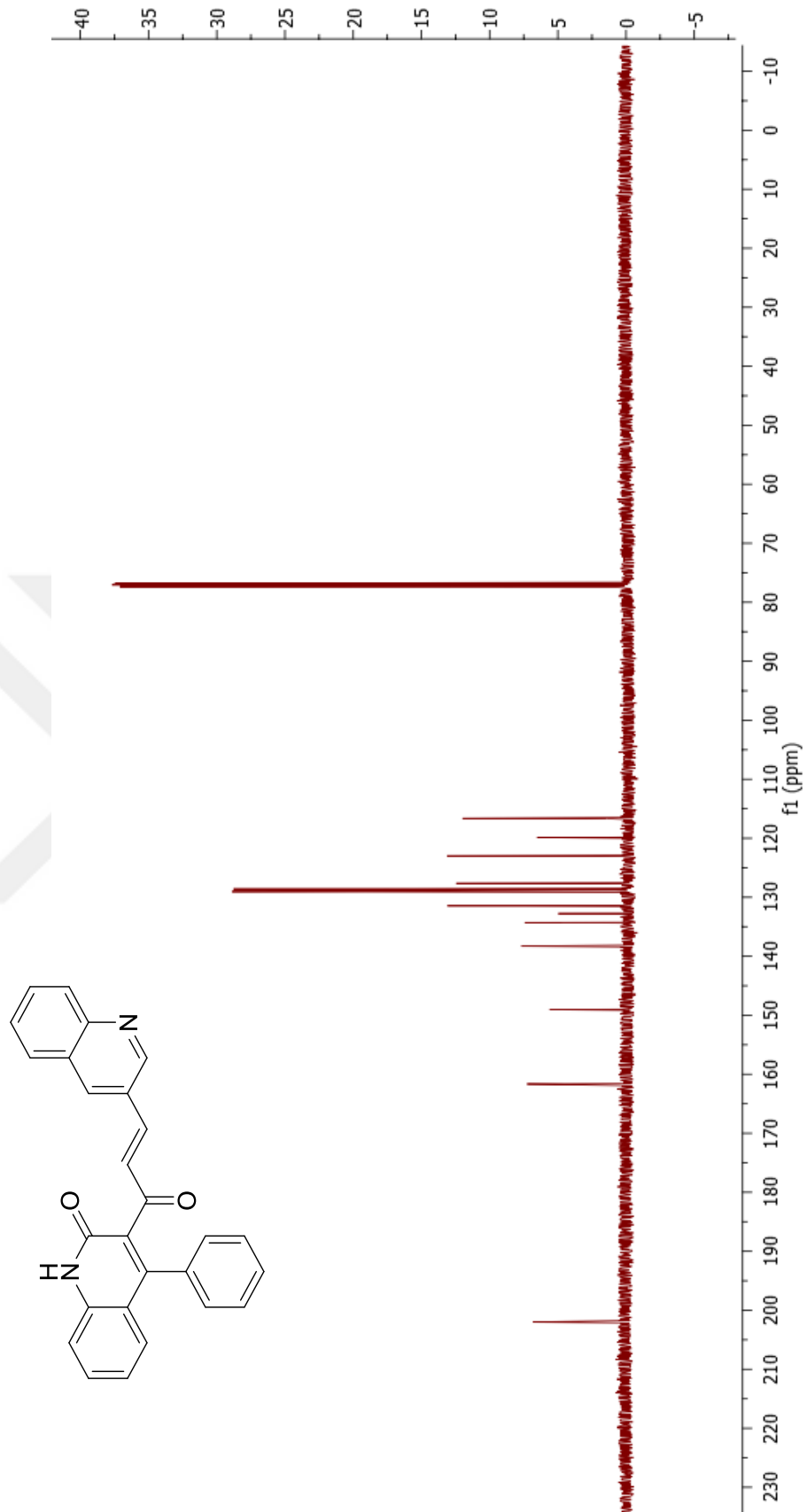
^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 201.94, 161.63, 149.04, 138.29, 134.32, 132.81, 131.46, 129.02, 128.98, 128.60, 127.67, 122.99, 119.88, 116.61$.



Şekil 6.29 Bileşik 6'nın FTIR Spektrumu

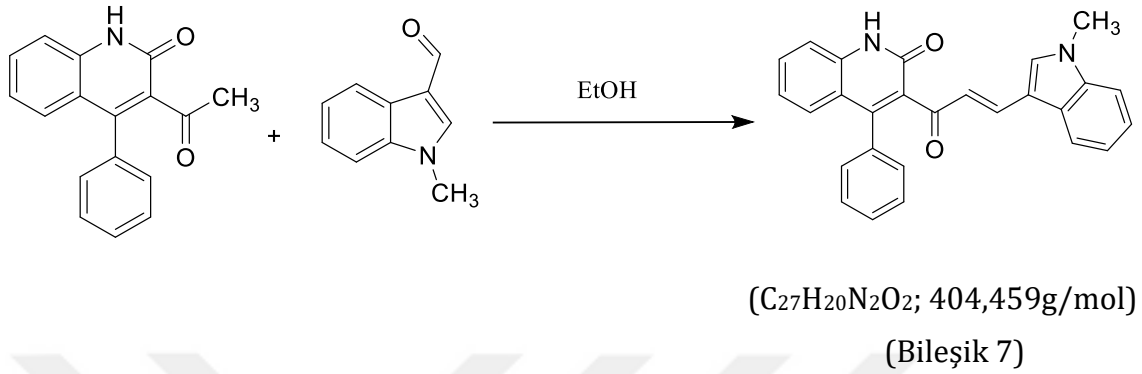


Şekil 6.30 Bileşik 6'nın ^1H NMR Spektrumu



Şekil 6.31 Bileşik 6'nın ^{13}C NMR Spektrumu

6.1.7 3-(3-(1-Metil-1H-pirol-2-il)akriloil)-4-fenilkinolin-2(1H)-on Bileşiğinin (Bileşik 7) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₂₇H₂₀N₂O₂; 404,459g/mol)



Reaktifler:

0,74 mmol Bileşik-1

0,74 mmol 1-metilindol-3-karboksaldehit

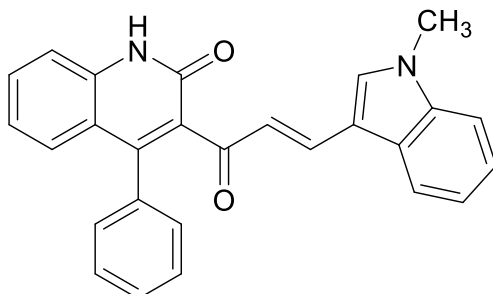
2,96 mmol NaOH

İnert atmosfer altında oda sıcaklığında çift boyunlu bir balona, 0,20g Bileşik-1(1 eşdeğer), 0,12g 1-metilindol-3-karboksaldehit (1 eşdeğer), 0,12g NaOH (4 eşdeğer) ile 10ml EtOH/4 ml DCM eklenerek gece boyunca karışmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda TLC (H:EA (5:2)) ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon balonuna pH:3 olacak şekilde %10'luk HCl damlatılarak asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon metodu ile (3×8) ml'lik saf su ile yıkama işlemi yapılmış, etil asetat yardımıyla organik faz su fazından ayrılarak sodyum sülfat ile kurutulup, çözücüsü rotaryde uçurulmuş, daha sonra %30'luk etil asetat/hekzan kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırılmıştır.

Erime Noktası: 248-250°C

Verim: 0,183g (%43), beyaz katı madde.

6.1.7.1 Bileşik 7'nin Spektral Verileri

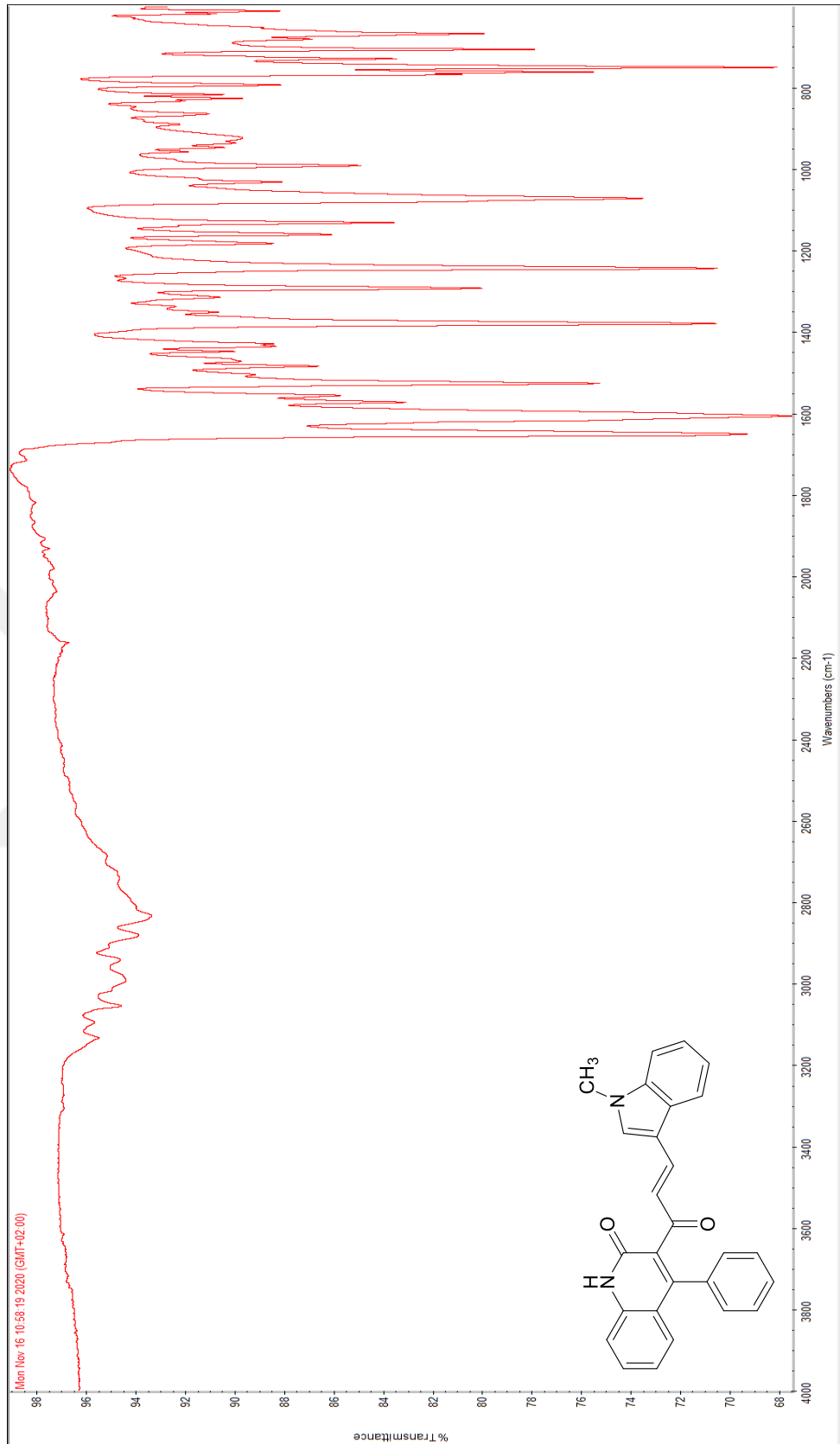


Şekil 6.32 Bileşik 7'nin Molekül Yapısı

FTIR (ATR): $\nu=3000\text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 3000 cm^{-1} hemen altında gelen pikler (metil ve metilene ait sp^2 ve sp^3 C-H simetrik asimetrik düzlem içi gerilimleri), 1700 cm^{-1} civarı gelen pikler (yapıdaki fenil halkası ve buna bağlı doymamışlık overtonları), 1600 cm^{-1} 'de gelen keskin pik (C=O düzlem içi gerilimi) $1430\text{-}1376\text{ cm}^{-1}$ (metilin şemsiye bandı), $1300\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ (C-N düzlem içi eğilimleri) (Şekil 6.34).

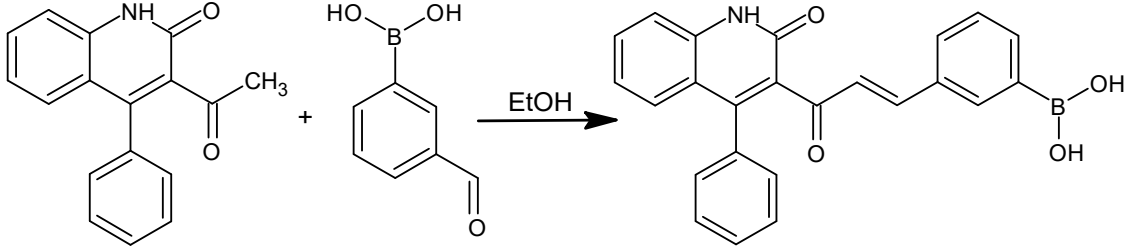
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 12.99, 8.10, 7.75, 7.71, 7.70, 7.68, 7.57, 7.57, 7.55, 7.55, 7.53, 7.53, 7.51, 7.50, 7.50, 7.49, 7.48, 7.46, 7.46, 7.40, 7.37, 7.35, 7.34, 7.33, 7.33, 7.29, 7.26, 7.16, 7.16, 7.14, 7.13, 7.12, 7.08, 7.06, 7.00, 6.94, 6.92, 5.84, 4.12, 4.11, 4.10, 3.76, 3.74, 3.73, 3.04, 2.80, 2.48, 2.46, 2.32, 2.22, 2.19, 2.16, 2.05.

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 201.95 (s), 161.61 (s), 149.09 (s), 138.26 (s), 134.29 (s), 132.76 (s), 131.48 (s), 129.03 (d, $J = 5.4\text{ Hz}$), 128.62 (s), 127.67 (s), 123.03 (s), 119.89 (s), 116.64 (s), 77.37 (s), 77.05 (s), 76.73 (s), 31.82 (s), 29.72 (s).



Şekil 6.33 Bileşik 7'nin FTIR Spektrumu

6.1.8 3-[(2E)-3-Fenil boronik asit]prop-2-enol]-4-fenilkinolin-2(1H)-on Bileşiğinin (Bileşik 8) Sentezi (C₂₄H₁₈BN₄; 395,215g/mol)



(C₂₄H₁₈BN₄; 395,215g/mol)

(Bileşik 8)

Reaktifler:

0,74 mmol Bileşik-1

0,74 mmol 3-Formilfenil boronik asit

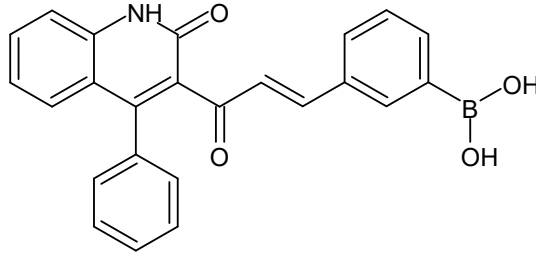
2,96 mmol NaOH

İnert atmosfer altında oda sıcaklığında çift boyunlu bir balona, 0,20g Bileşik-1(1 eşdeğer), 0,12g 3-Formilfenil boronik asit (1 eşdeğer), 0,12g NaOH (4 eşdeğer) ile 10ml EtOH/4 ml DCM eklenerek gece boyunca karışmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda TLC (H:EA (3:2)) ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon balonuna pH:3 olacak şekilde %10'luk HCl damlatılarak asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon metodu ile (3×8) ml'lik saf su ile yıkama işlemi yapılmış, etil asetat yardımıyla organik faz su fazından ayrılarak sodyum sülfat ile kurutulup, çözücüsü rotaryde uçurulmuştur. Daha sonra ham ürün çözülerek %10'luk etil asetat/hekzan filtre kolonundan süzülerek saflaştırılmaya çalışılmıştır.

Erime Noktası: 207-208°C

Verim: %84,5 sarı katı madde.

6.1.8.1 Bileşik 8'in Spektral Verileri



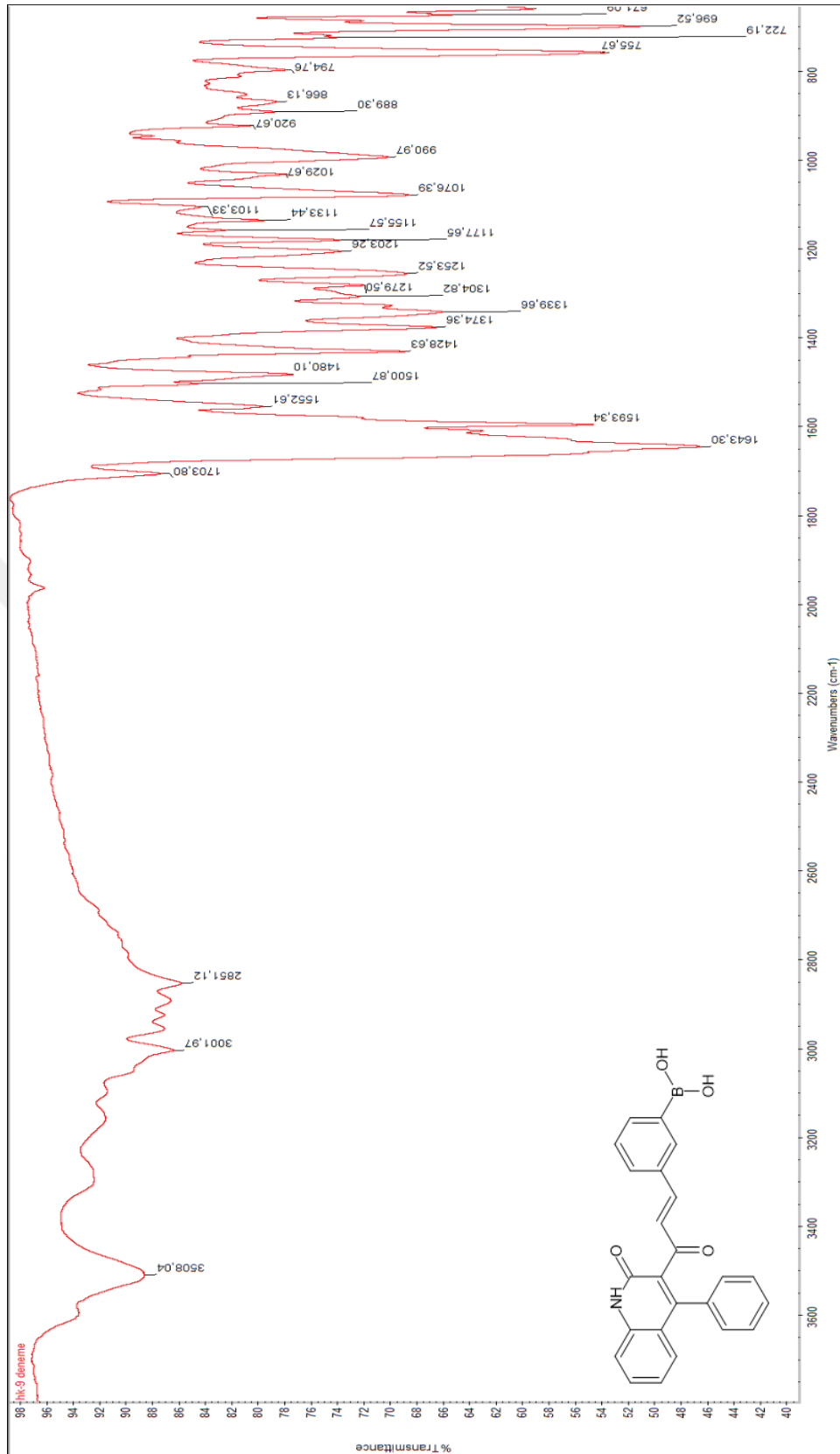
Şekil 6.36 Bileşik 8'in molekül yapısı

FTIR (ATR): $\nu = 3508 \text{ cm}^{-1}$ (OH düzlem içi gerilimi), 3001 cm^{-1} (aromatik yapıya bağlı sp^2 C-H düzlem içi gerilimleri), 2851 cm^{-1} (alifatik, metil ve metilene ait simetrik asimetrik gerilimler), 1643 cm^{-1} (C=O düzlem içi gerilimi), 1480 cm^{-1} (O-H düzlem içi eğilimleri), 1428 cm^{-1} (metilin şemsiye bandı), $1300\text{-}1100 \text{ cm}^{-1}$ (C-N düzlem içi eğilimleri), 1076 cm^{-1} (C-H düzlem dışı eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.37).

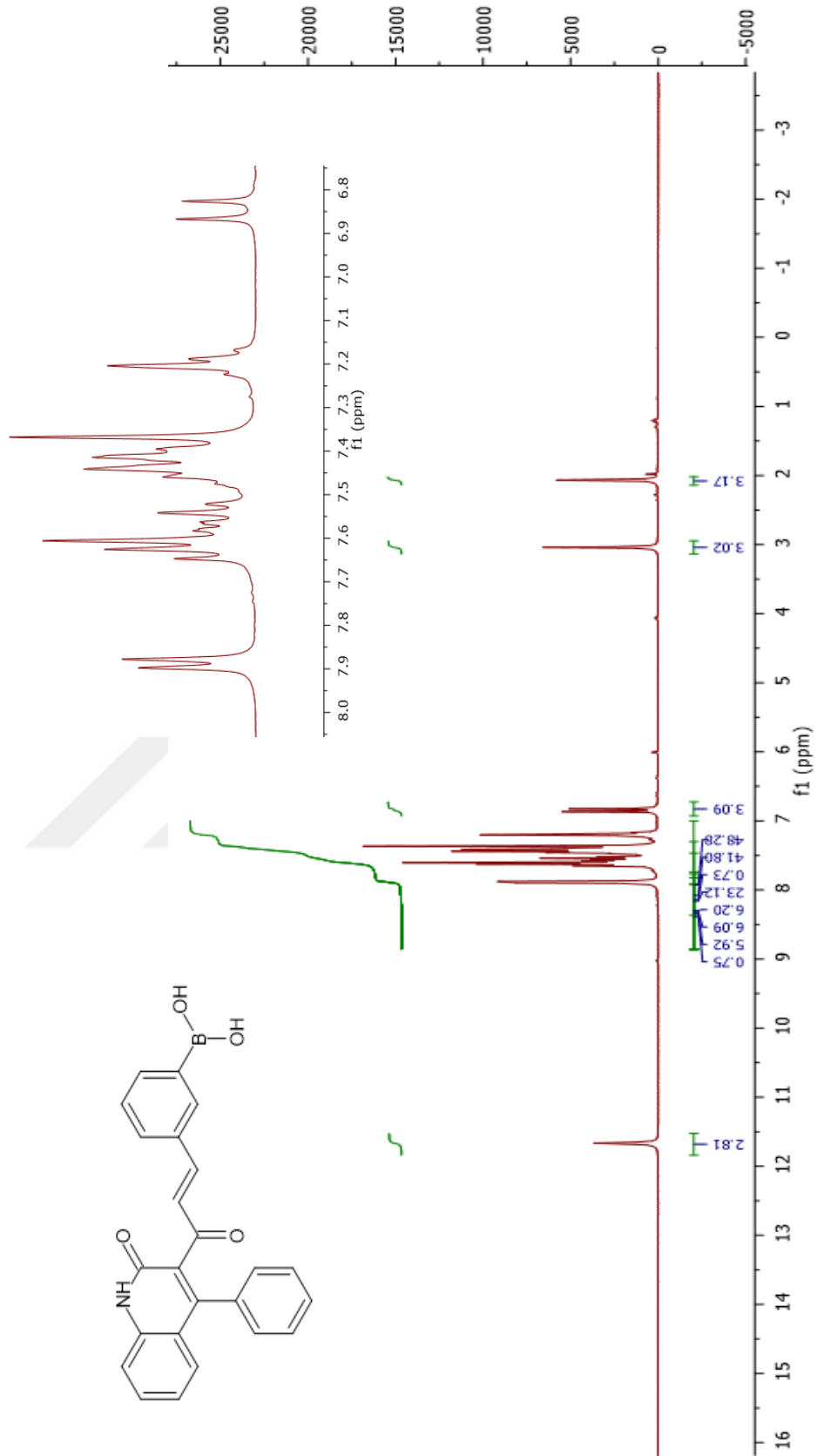
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 13.16 (s, 21H), 7.62 – 7.43 (m, 100H), 7.49 – 7.39 (m, 14H), 7.39 – 7.31 (m, 40H), 7.19 (d, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2H), 7.22 – 6.97 (m, 24H), 2.34 (s, 63H), 1.46 – 1.14 (m, 8H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 202.03 (s), 161.72 (s), 149.08 (s), 138.32 (s), 134.32 (s), 132.75 (s), 131.48 (s), 129.03 (d, $J = 6.7 \text{ Hz}$), 128.62 (s), 127.64 (s), 123.02 (s), 119.88 (s), 116.71 (s), 77.42 (s), 77.10 (s), 76.79 (s), 31.84 (s).

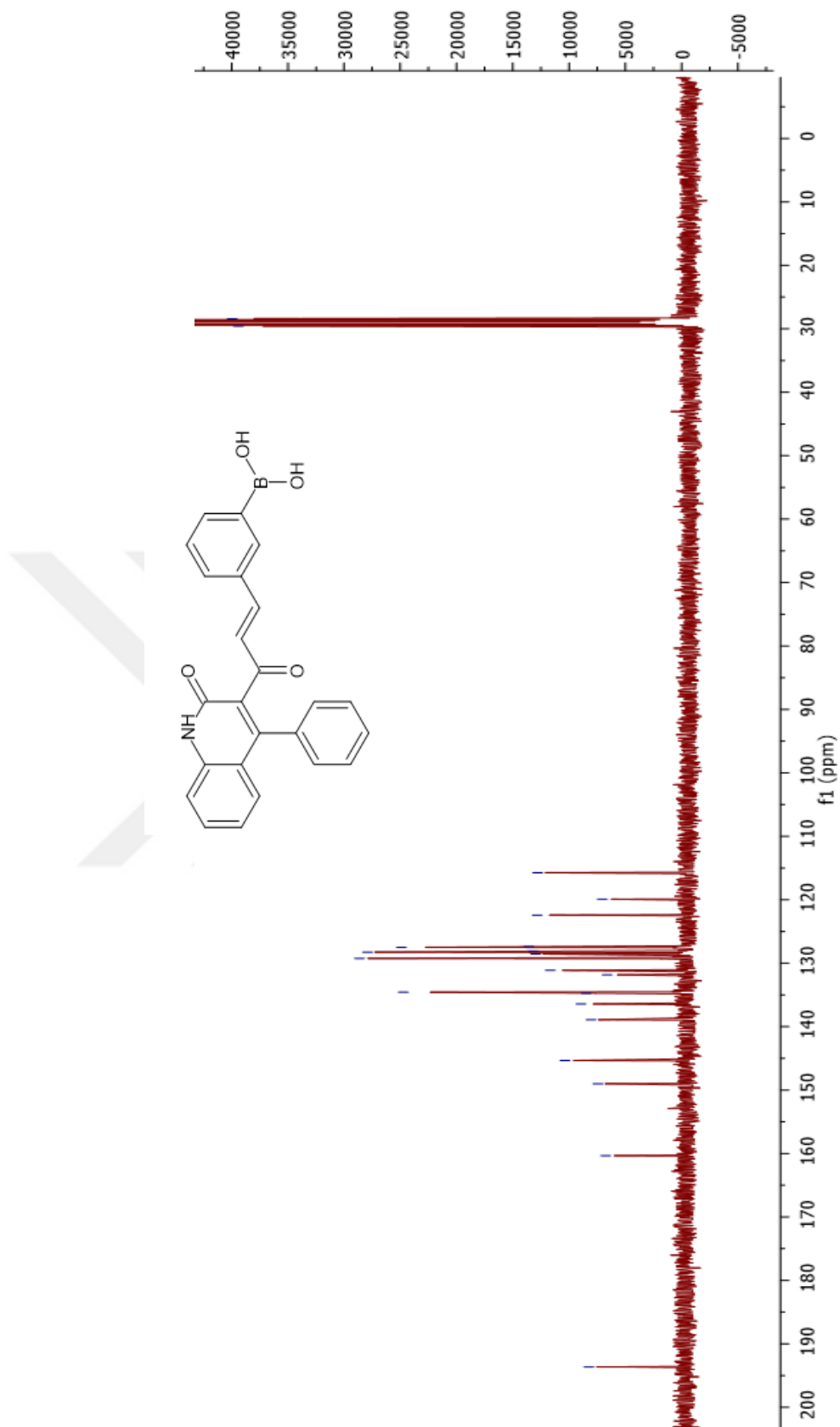
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{BNO}_4$ hesaplanan; 395,215g/mol $[\text{M}^+]$, bulunan 396,140 g/mol $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Şekil 6.40).



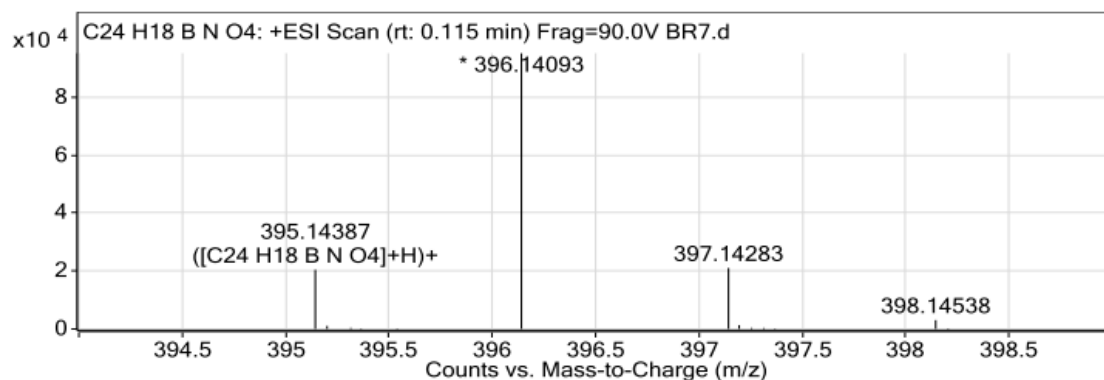
Şekil 6.37 Bileşik 8'in FTIR Spektrumu



Şekil 6.38 Bileşik 8'in ^1H NMR Spektrumu



Şekil 6.39 Bileşik 8'in ^{13}C NMR Spektrumu

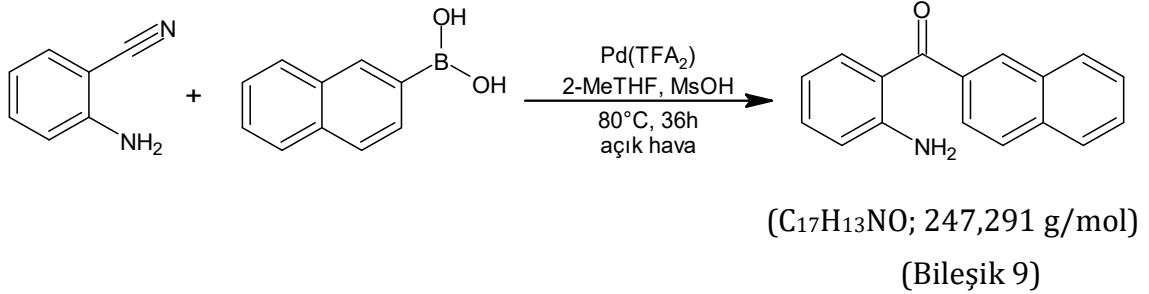


Peak List

m/z	z	Abund	Formula	Ion
246.04367		416.69		
264.10266		621.79		
352.13427	1	1251.48		
368.12874	1	2999.02		
369.13193	1	753.35		
395.14387		20429.01	C24 H18 B N O4	(M+H)+
395.20075		1049.21		

Şekil 6.40 Bileşik 8'in LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

6.1.9 2-Aminofenil (naftalin-2-il) metanon (Bileşik-9) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₁₇H₁₃NO; 247,291g/mol)



Reaktifler:

0,4 mmol 2-Aminobenzonitril

0,8 mmol Naftil Boronik asit

% 5 mol Pd(TFA)₂

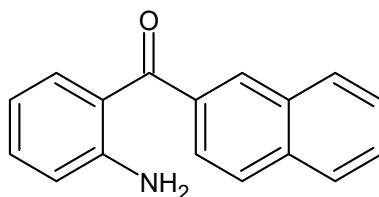
% 7,5 mol Ligand (5,5'-dimetil-2,2'-bipiridin)

4 mmol MsOH

Oda koşullarında yuvarlak dipli bir balonda yukarıdaki reaktif maddeler; 1,37g Naftil Boronik asit, 0,47g 2-aminobenzonitril, 0,06g Pd katalizör, 0,05g Ligand (5,5'-dimetil-2,2'-bipiridin), 6g MsOH tartılarak 20 ml 2-MeTHF/10 ml H₂O yardımıyla eş zamanlı olarak toplanmıştır. Açık hava ortamında 80°C'lik yağ banyosunda 36 saat dönecek şekilde kuvvetli manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmaya bırakılmıştır. Reaksiyon sonu TLC (H:EA (1:1)) ile tayin edilerek sonlandırılmıştır. Reaksiyon sonlandırıldıktan sonra etil asetat katılarak ayırma hunisine devrilir ve (2×10 ml) hazırlanan doymuş NaHCO₃ çözeltisi ile ekstraksiyon yapılır. Ardından 10 ml'lik tuzlu su ile yıkama işlemi gerçekleştirilir. Ekstraksiyon sonunda organik faz, su fazından ayrılarak susuz sodyum sülfat ile kurutulup, çözücüsü vakum altında uçurulmuştur. %10'luk etil asetat/hekzan kolon kromatografisi metoduyla saflaştırılmıştır. Elde edilen ürünün FT-IR spektrumu, hazır olarak elimizde bulunan 2-aminobenzofenon FTIR spektrumu ile kıyaslanarak molekülün doğru sentezlendiğine kanaat getirilmiştir.

Verim: 0,062 g (%68), sarı kristal madde.

6.1.9.1 Bileşik 9'un Spektrel Verileri



Şekil 6.41 Bileşik 9'un molekül yapısı

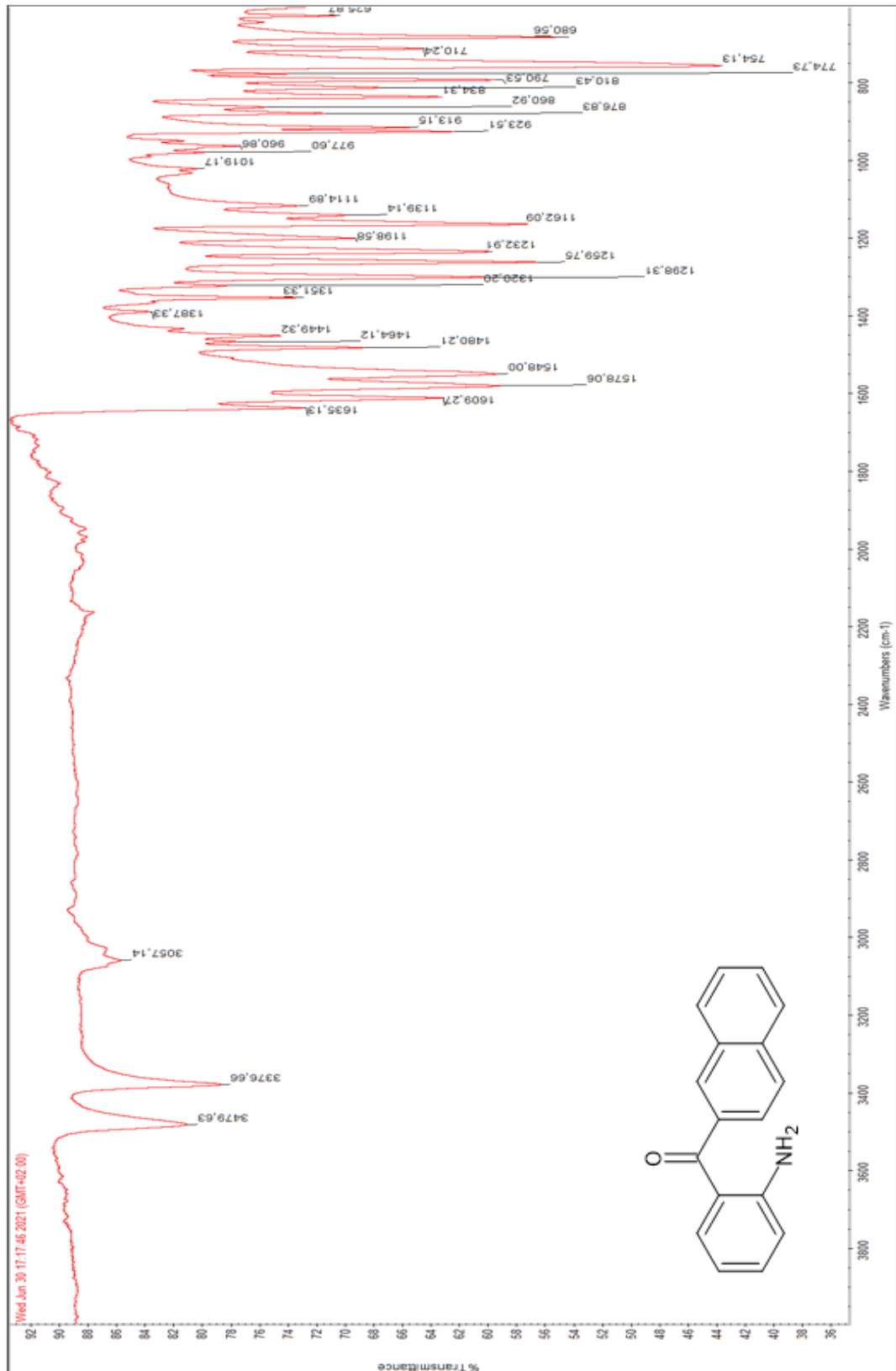
FTIR (ATR): $\nu = 3479\text{-}3376\text{ cm}^{-1}$ (NH_2 simetrik asimetrik düzlem içi gerilimleri), 3067 cm^{-1} (aromatik yapıya bağlı sp^2 C-H düzlem içi gerilimleri), 1600 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ düzlem içi gerilimi), 1480 cm^{-1} (metilin şemsiye bandı), $1300\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ (C-N düzlem içi eğilimleri), 1162 cm^{-1} (C-H düzlem dışı eğilimleri) (Şekil 6.42).

- Bileşik 9, reaksiyonu sonucunda, kimyasal yapısı içeriğindeki fonksiyonel grupları ile benzer olan ve yakın FTIR spektrumuna sahip olacağı düşünülen 2-Aminobenzofenon bileşiği ile karşılaştırılmıştır. Bu spektrumlar neticesinde 1600 cm^{-1} civarında çıkması beklenen karbonil pikleri ile $3479\text{-}3376\text{ cm}^{-1}$ arasında çıkan NH_2 pikleri kıyaslanarak sentezin tamamlanmış olduğuna kanaat getirilmiştir (Şekil 6.43).

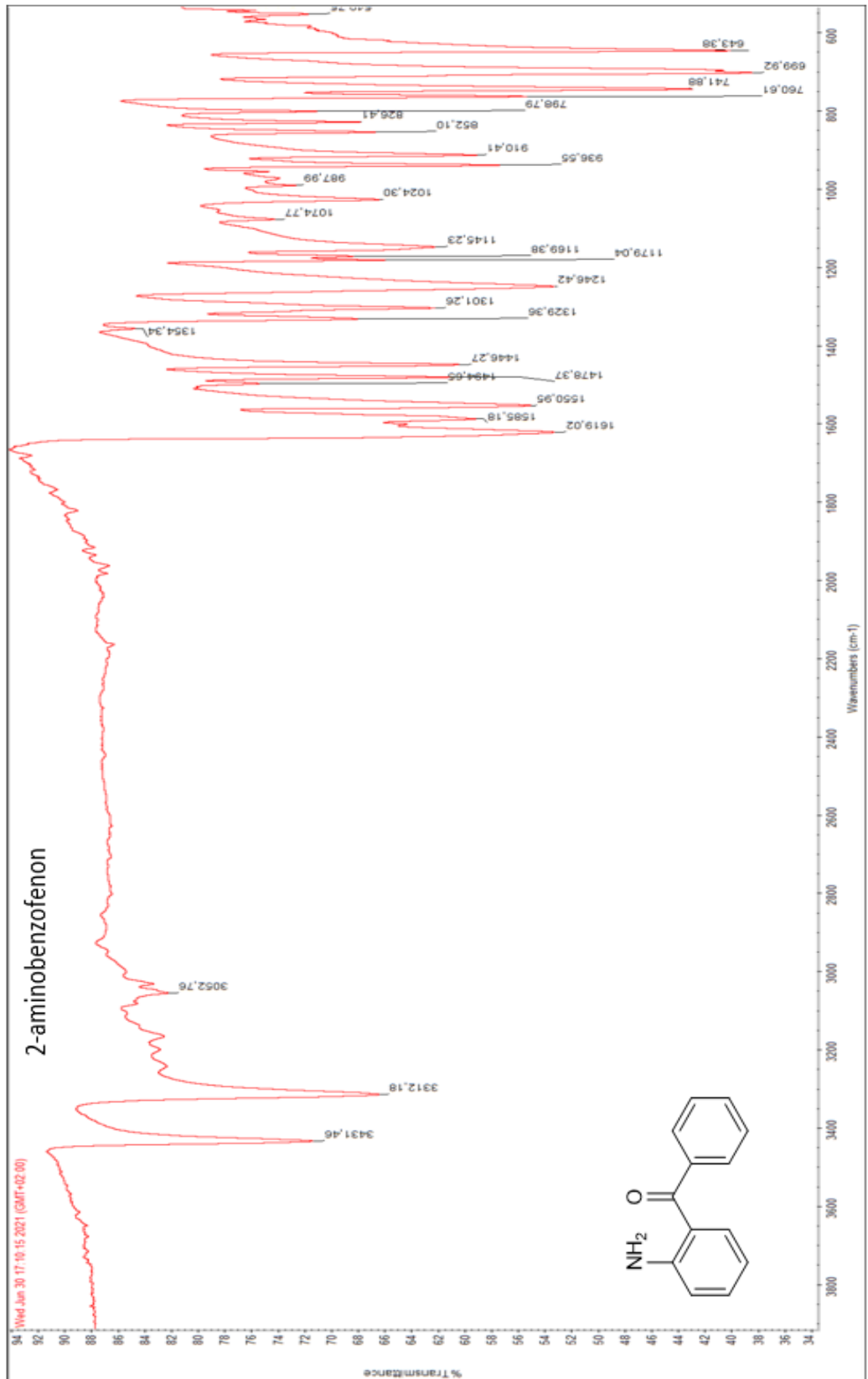
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (s, 4H), 8.29 (s, 4H), 8.23 (d, $J = 9.7\text{ Hz}$, 4H), 8.15 (s, 69H), 8.04 (dd, $J = 17.5, 8.6\text{ Hz}$, 10H), 8.01 – 7.85 (m, 202H), 7.85 – 7.68 (m, 79H), 7.68 – 7.48 (m, 204H), 7.44 – 7.21 (m, 83H), 7.12 (d, $J = 9.7\text{ Hz}$, 6H), 6.98 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, 5H), 6.84 (d, $J = 8.2\text{ Hz}$, 4H), 6.78 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 67H), 6.72 – 6.55 (m, 76H), 6.48 – 6.40 (m, 8H), 6.40 – 4.26 (m, 246H), 4.97 (s, 3H), 4.66 (d, $J = 244.6\text{ Hz}$, 61H), 4.38 – 4.33 (m, 3H), 4.04 – 3.99 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 198.99 (s), 150.97 (s), 137.31 (s), 134.61 (d, $J = 6.0\text{ Hz}$), 134.27 (s), 132.32 (s), 130.09 (s), 129.12 (s), 128.05 (s), 127.78 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$), 126.71 (s), 125.78 (s), 118.45 (s), 117.09 (s), 115.63 (s), 77.45 (s), 77.13 (s), 76.81 (s).

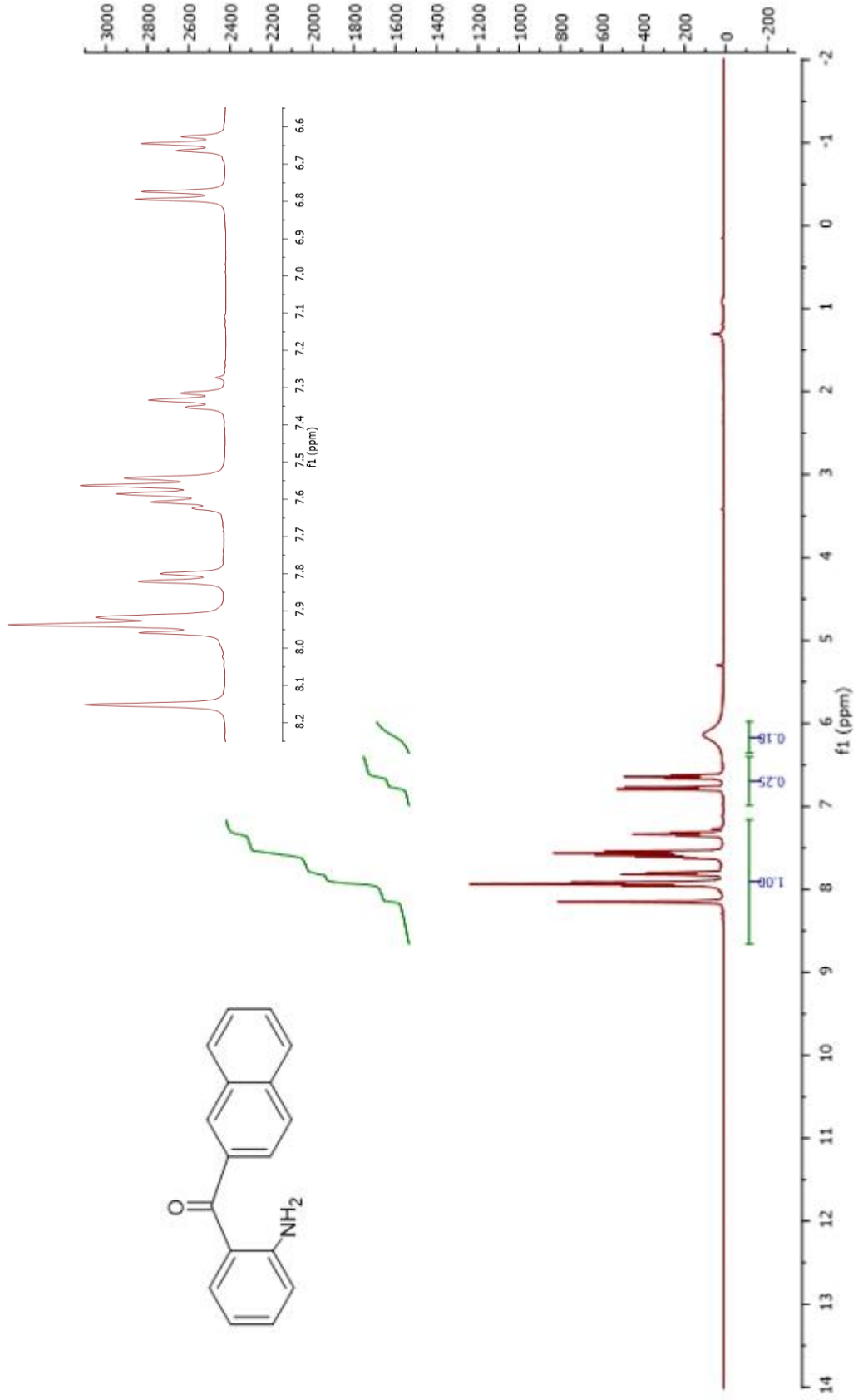
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}$ hesaplanan; 247,291 g/mol $[\text{M}^+]$, bulunan 248,107 g/mol $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Şekil 6.46).



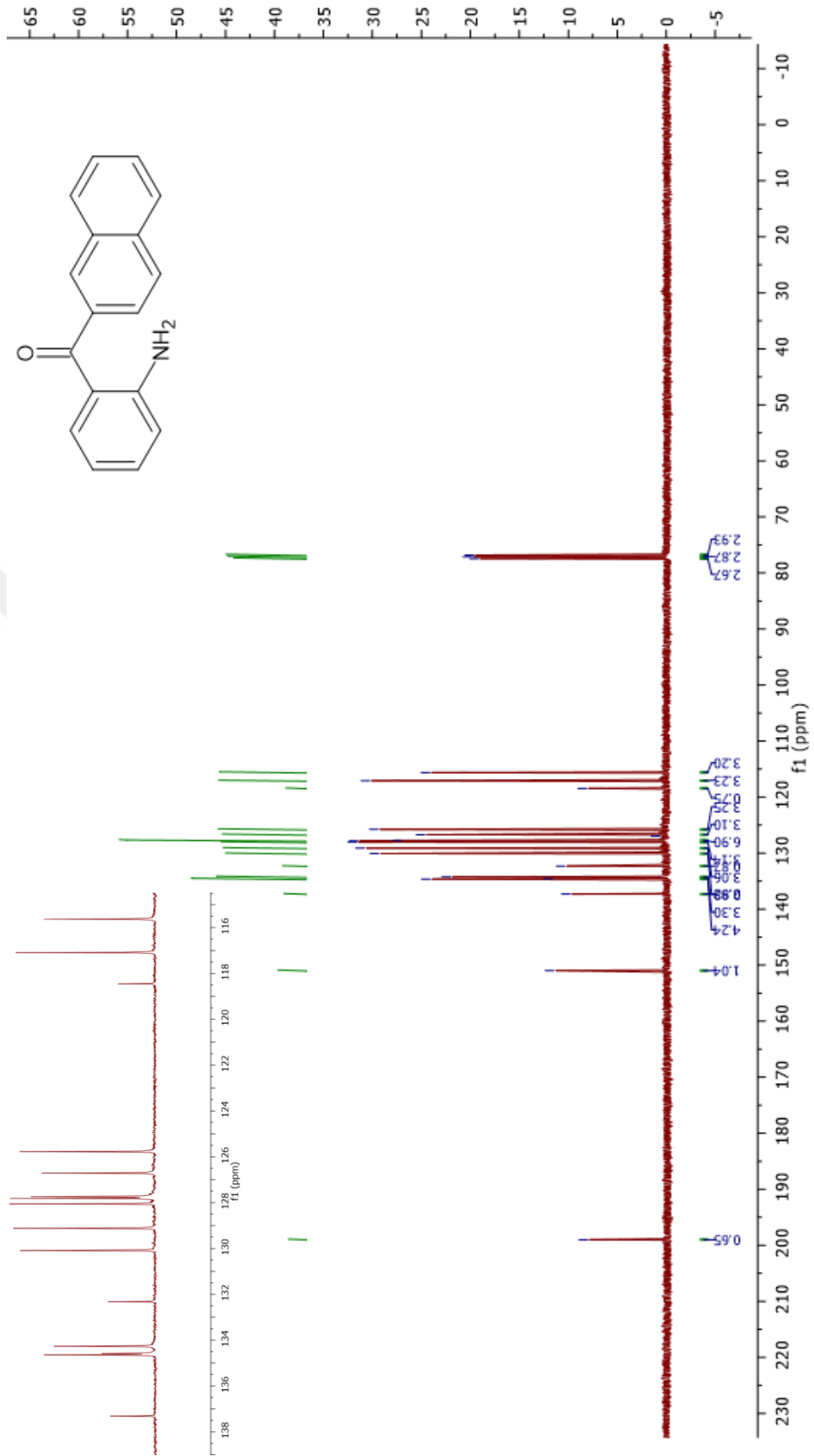
Şekil 6.42 Bileşik 9'un FTIR Spektrumu



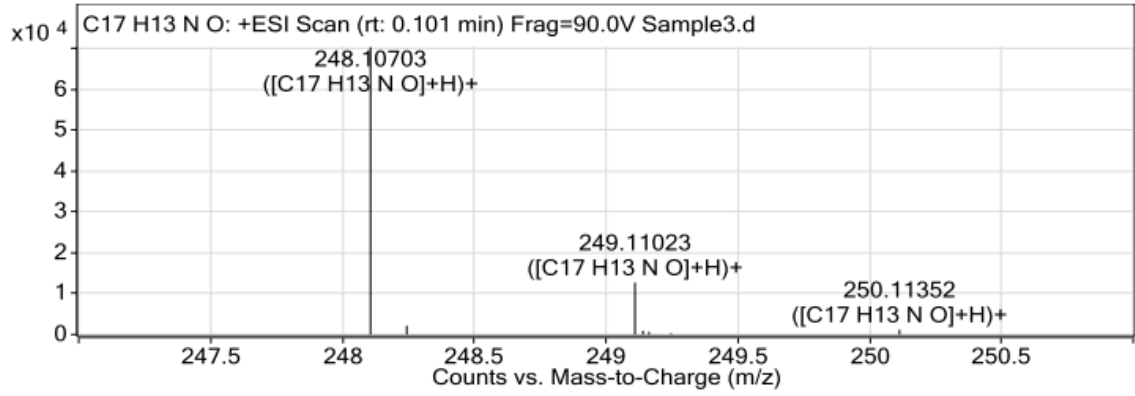
Şekil 6.43 2-Aminobenzofenon FTIR Spektrumu



Şekil 6.44 Bileşik 9'un ^1H NMR Spektrumu



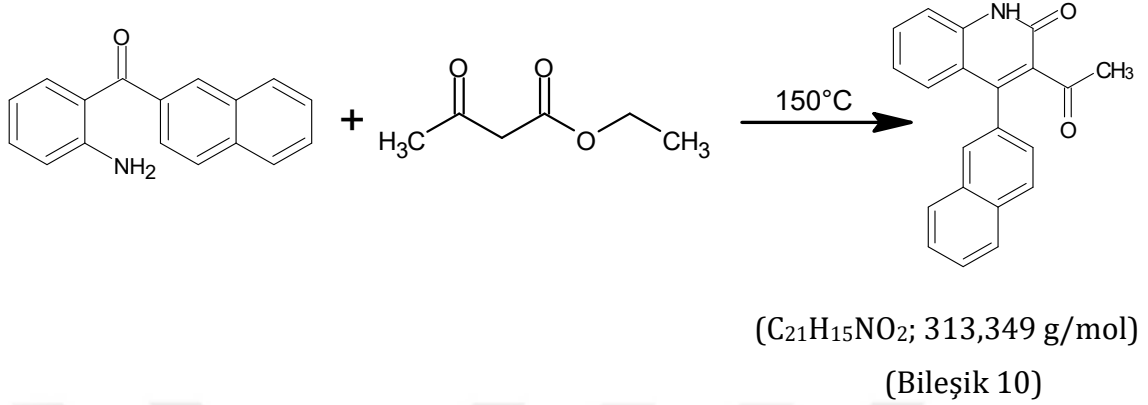
Şekil 6.45 Bileşik 9'un ^{13}C NMR Spektrumu



187.11234	1	1052.63		
207.08977	1	1805.76		
208.09377	1	307.14		
213.14549		929.63		
230.25044		343.13		
242.28414		1218.25		
248.10703	1	70519.35	C17 H13 N O	(M+H) ⁺
248.24464	1	2165.47		
249.11023	1	12731.27	C17 H13 N O	(M+H) ⁺
249.14053		919.91		
249.16336		650.72		
249.24705	1	291.04		
250.11352	1	1183.33	C17 H13 N O	(M+H) ⁺

Şekil 6.46 Bileşik 9'un LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

6.1.10 3-Asetil-4-(naftalin-2-il) kinolin-2(1H)-on (Bileşik 10) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₂₁H₁₅NO₂; 313,349 g/mol)



Reaktifler:

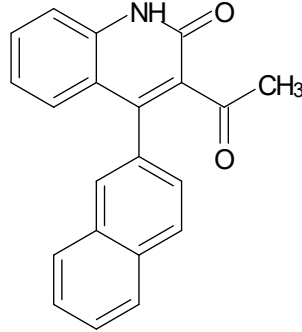
20 mmol Bileşik 9

40 mmol Etilaseto asetat

Bileşik 10' un sentezi için, Bileşik 9 ve etilaseto asetat çözeltisi 150 °C' de 4 saat Argon atmosferinde geri soğutucu altında ısıtılır. Reaksiyon sonu TLC (H: EA (5:2)) ile kontrol edilerek tayin edilir. Reaksiyon karışımı soğutulur ve karıştırılarak yavaşça 40 ml lik buz gibi bir suyun içine dökülür. Meydana gelen süspansiyonun içerisindeki sakızımsı çökelti sertleşene kadar bir buz banyosunda bekletilir, daha sonra ham ürün toplanır, su ile yıkanır ve etanolle yeniden kristallendirme yapılır. Kristallendirme sonucunda hala safsızlık kaldığı farkedildiği için %20'lik (EA/H) kolon kromatografisi yöntemi ile yeniden saflaştırılmıştır.

Verim: 0,13 g (% 75), sarı kristal madde.

6.1.10.1 Bileşik 10'un Spektral Verileri

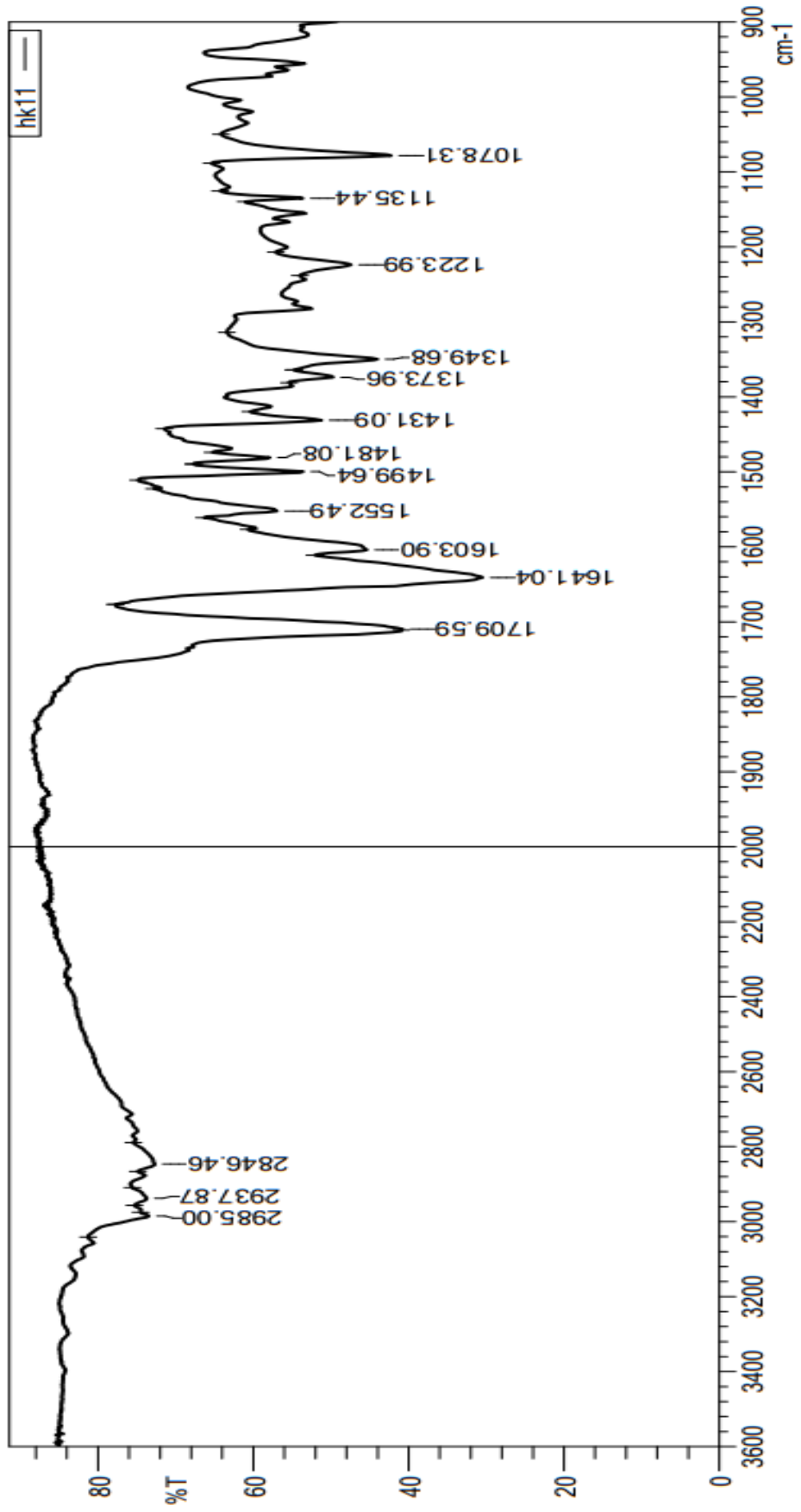


Şekil 6.47 Bileşik 10'un molekül yapısı

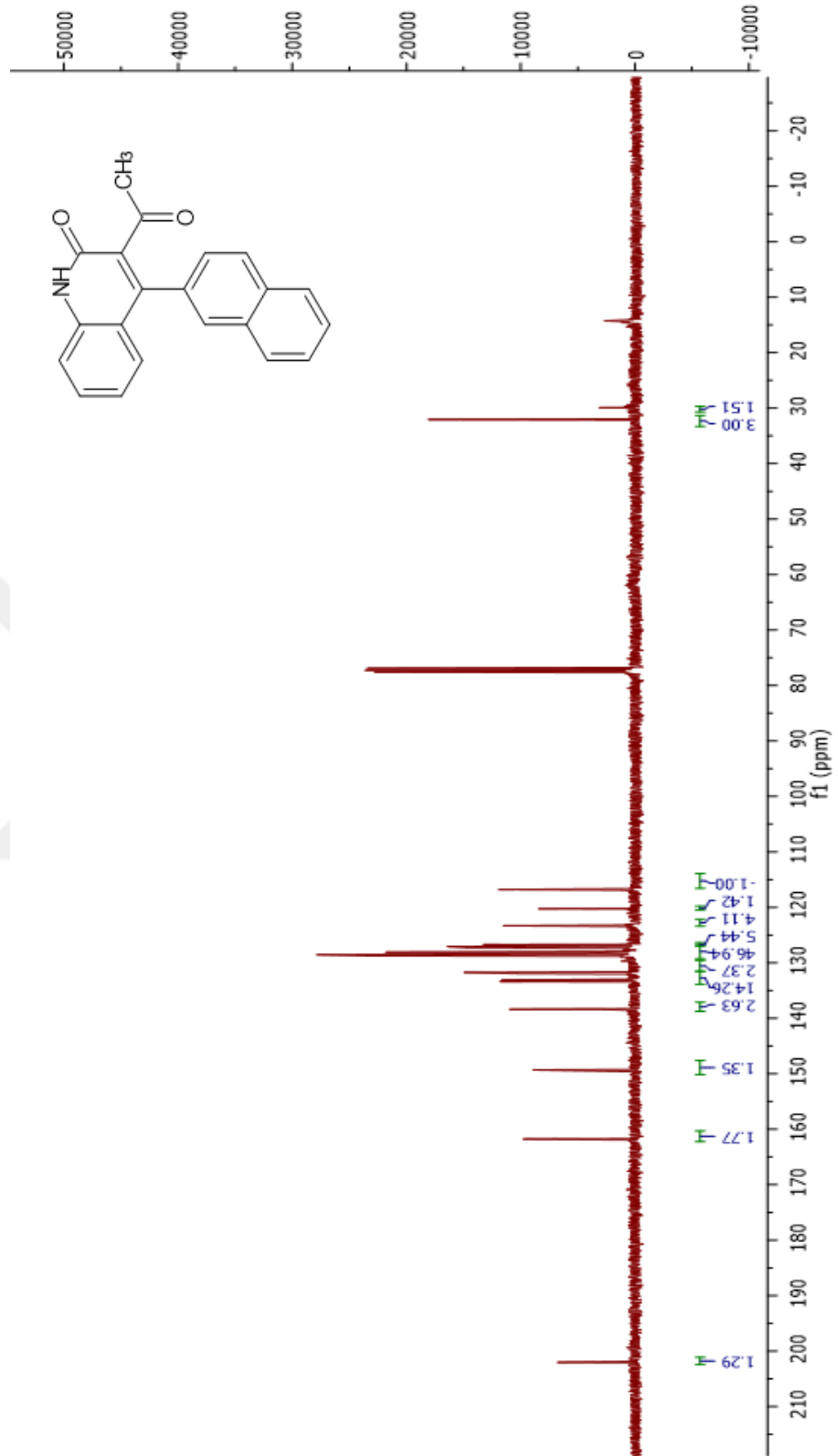
FTIR (ATR): $\nu = 3000 \text{ cm}^{-1}$ üzeri gelen pikler (aromatik =C-H gerilimleri), 2985-2937 cm^{-1} (Alifatik -CH₃ gerilmeleri), 2846 (Alifatik -CH₂ gerilmeleri), 1841 cm^{-1} (alifatik, C-H simetrik asimetrik gerilimler), 1709 (C=C düzlem içi gerilmeleri), 1641 (C=O gerilmeleri), 1499 (metilin şemsiye bandı) cm^{-1} 1300-1100 (C-N düzlem içi eğilimleri) cm^{-1} (Şekil 6.47).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 202.05 (s), 161.78 (s), 149.32 (s), 138.41 (s), 133.48 – 132.97 (m), 131.97 (s), 131.75 (s), 128.90 – 128.80 (m), 128.65 (d, $J = 20.0 \text{ Hz}$), 128.08 (d, $J = 6.7 \text{ Hz}$), 127.19 (d, $J = 18.5 \text{ Hz}$), 126.73 (s), 123.33 (s), 120.27 (s), 116.80 (s), 77.58 (s), 77.26 (s), 76.95 (s), 32.07 (s), 29.93 (s), 14.28 (s).

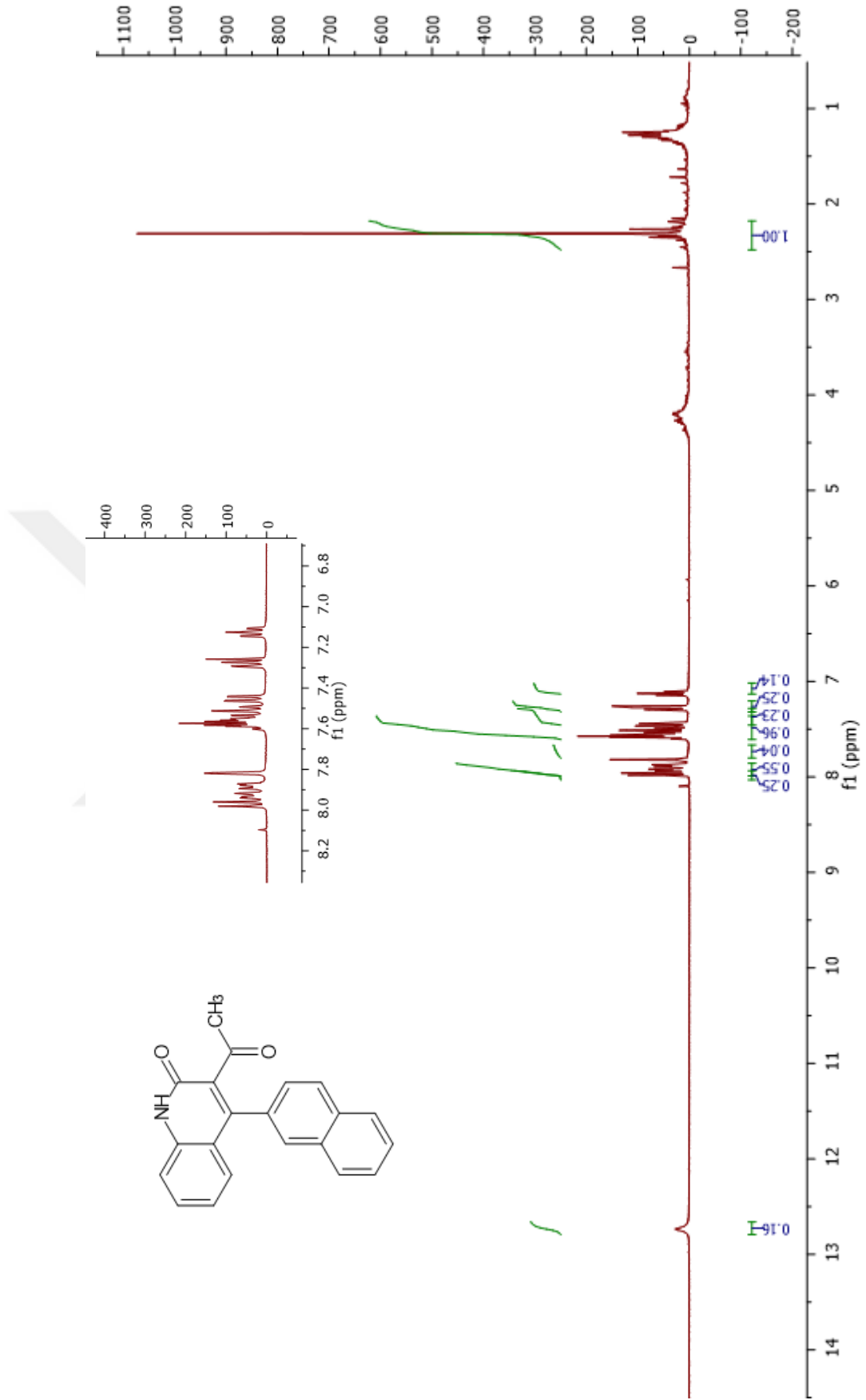
LC-MS (ESI-QTOF): $m/z = \text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ hesaplanan; 313,349 g/mol [M+], bulunan 314,117 g/mol [M+H]⁺ (Şekil 6.51)



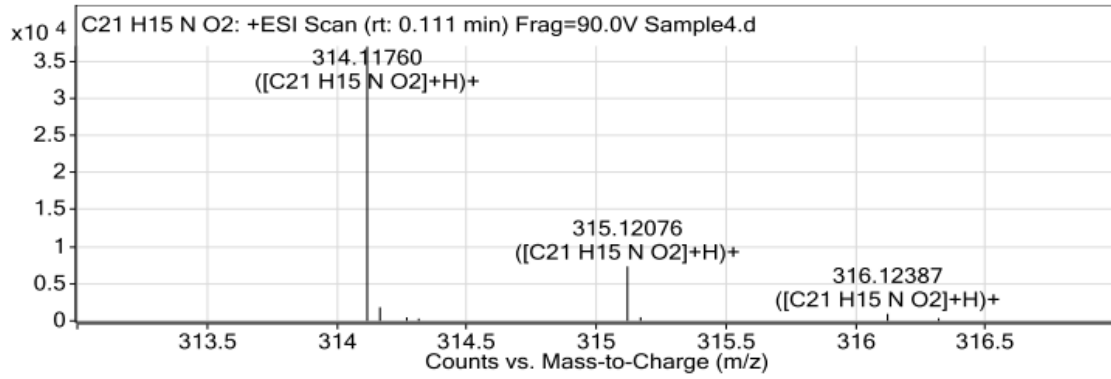
Şekil 6.48 Bileşik 10'un FTIR Spektrumu



Şekil 6.49 Bileşik 10'un ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 6.50 Bileşik 10'un ^1H NMR Spektrumu

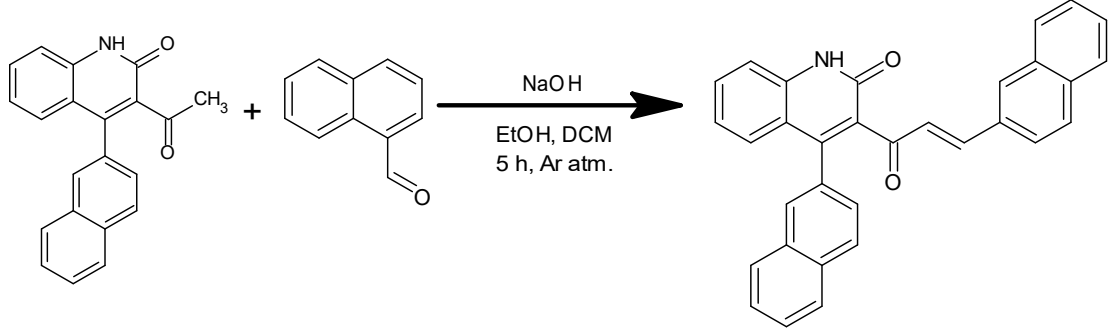


Peak List

m/z	z	Abund	Formula	Ion
185.10523		928.33		
197.07815		710.74		
219.05851		678.4		
242.28498		1496.01		
297.13339		647.85		
299.11213		627.84		
314.1176	1	37053.46	C ₂₁ H ₁₅ N O ₂	(M+H) ⁺
314.16662	1	1828.65		
314.27016		480.17		
315.12076	1	7342.47	C ₂₁ H ₁₅ N O ₂	(M+H) ⁺
315.17176	1	494.14		
316.12387	1	950.88	C ₂₁ H ₁₅ N O ₂	(M+H) ⁺
319.1147		1675.17		

Şekil 6.51 Bileşik 10'un LC-MS (ESI-QTOF) Spektrumu

**6.1.11 (E)-4-(Naftalin -2-il)-3-(3-(naftalin-2-il)-akriloil) kinolin-2(1H)-on
(Bileşik 11) Sentezi ve Karakterizasyonu (C₃₂H₂₁NO₂; 451,51 g/mol)**



(C₃₂H₂₁NO₂; 451,51 g/mol)
(Bileşik 11)

Reaktifler

0,37 mmol Bileşik 10

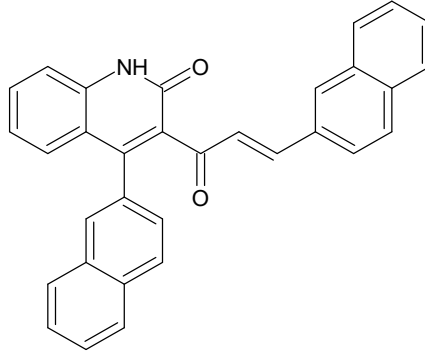
0,37 mmol 1-Naftaldehit

1,48 mmol NaOH

İnert atmosfer altında karıştırılmak üzere çift boyunlu bir balona, sentezlenen ara ürün Bileşik-1 (0,10g) ile eşdeğer ölçüde 1-Naftaldehit (0,057g) katılarak; üzerine eş zamanlı olarak 4 eşdeğer ölçüde 0,06g NaOH çözeltisi ile 5ml Etanol (EtOH) ve 2 ml diklorometan (DCM) eklenmiştir. Daha sonra argon gazından iki defa geçirildikten sonra reaksiyonun açık hava ile teması kesilerek oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda reaksiyon karışımı TLC (H: EA (1:1)) ile kontrol edilerek sonlandırılmış, %10' luk HCl ile pH:3 olacak şekilde asitlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 3 kez etilasetat/su ile ekstrakte edilmiş, organik fazı sodyum sülfat ile kurutularak çözücüsü rotaryde uçurulmuştur. Ham ürün vakum altında kurutulduktan sonra etanol ile kristallendirilmiştir.

Verim: 0,72 g (%68), sarı katı madde.

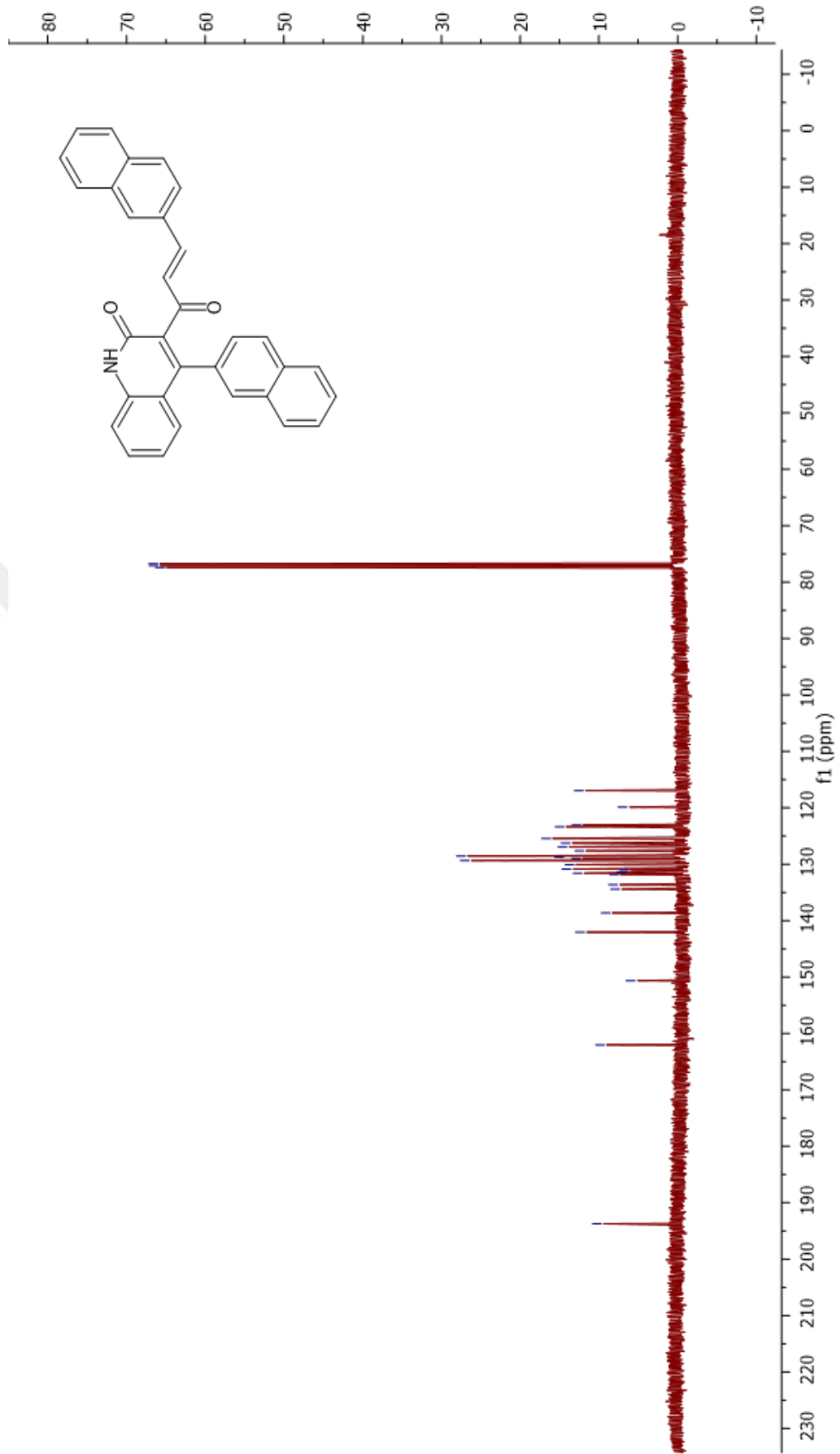
6.1.11.1 Bileşik 11'in Spektral Verileri



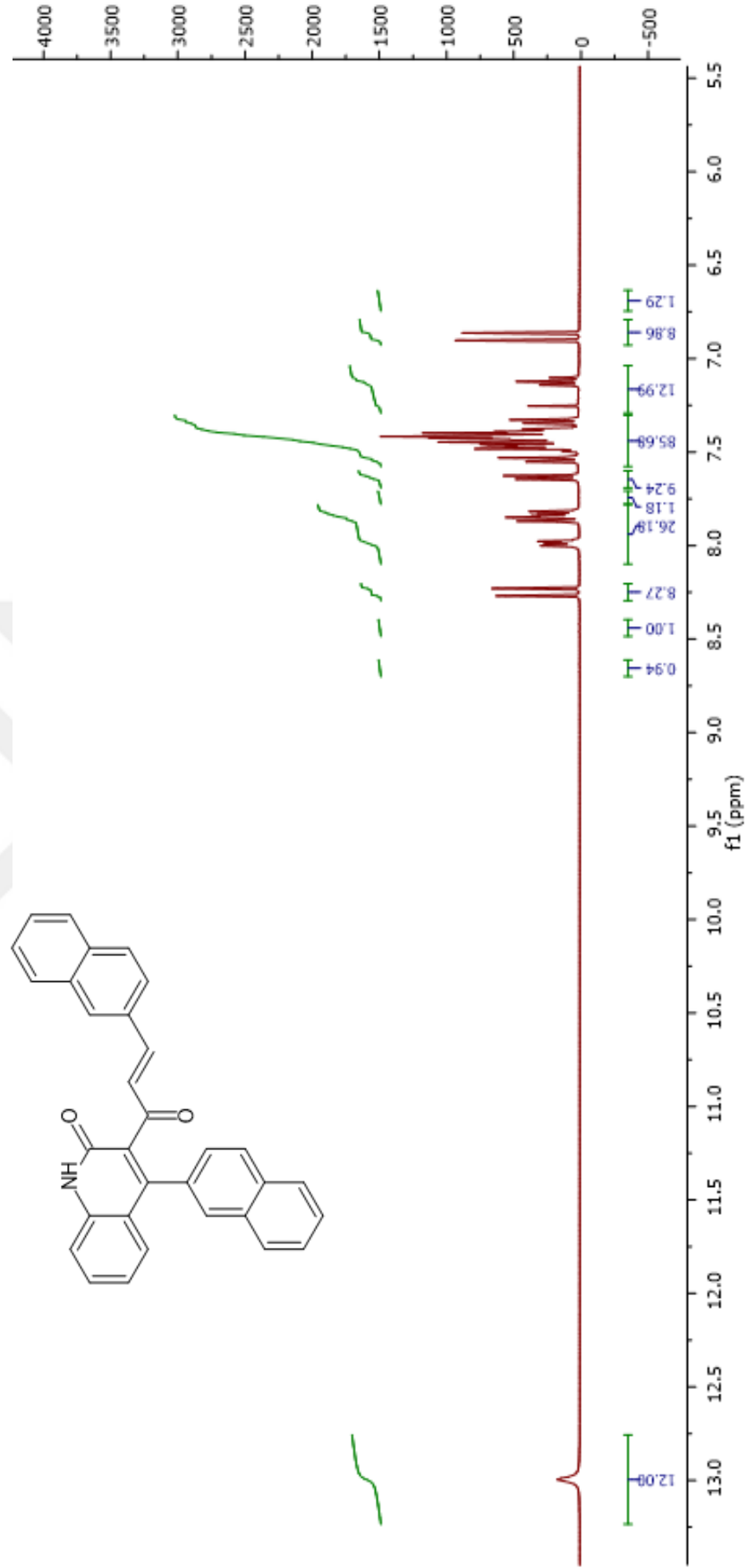
Şekil 6.52 Bileşik 11'in molekül yapısı

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 193.74, 162.03, 150.66, 142.06, 138.63, 134.42, 133.64, 131.82, 131.60, 131.45, 131.01, 130.87, 130.08, 129.37, 128.99, 128.74, 128.57, 127.63, 126.94, 126.26, 125.43, 123.36, 123.03, 119.90, 116.95, 77.40, 77.08, 76.76.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.00 (s, 12H), 8.66 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 15.9 Hz, 8H), 8.10 – 7.78 (m, 26H), 7.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.65 (t, *J* = 7.9 Hz, 9H), 7.58 – 7.30 (m, 86H), 7.29 – 7.04 (m, 13H), 6.88 (d, *J* = 15.9 Hz, 9H), 6.69 (dd, *J* = 16.0, 8.1 Hz, 1H).



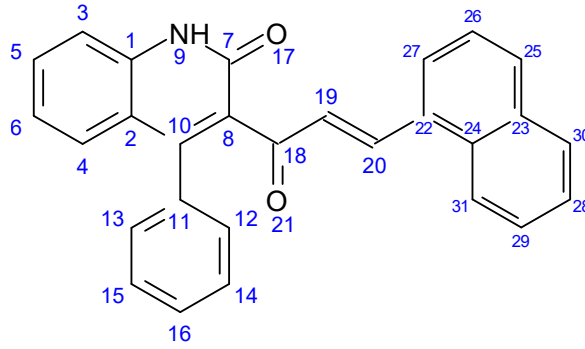
Şekil 6.53 Bileşik 11'in ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 6.54 Bileşik 11'in ¹H NMR Spektrumu

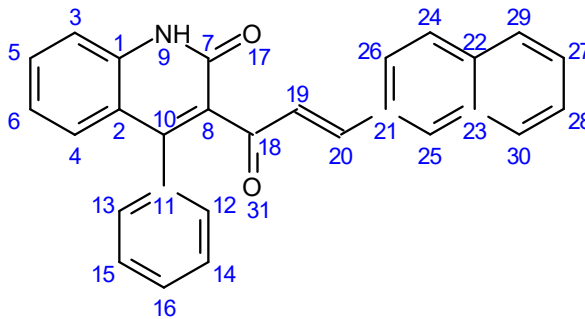
7.1 Yeni Fenil Kinolinon Bileşiklerinin Sentezleri

Çalışma kapsamında yapılan retrosentetik analizler yoluyla ulaşılan hedef yapılar iki basamaklı reaksiyon aşaması ile elde edilmiştir. Birinci basamakta Friedländer olmayan siklokondenzasyon reaksiyonu gerçekleşirken; ikinci basamakta aldol kondenzasyonu tepkimesi gerçekleşmiştir. Friedländer olmayan siklokondenzasyon reaksiyonu yöntemiyle o-aminobenzofenon bileşiği karbonil türevi olan etilasetoasetat ile 150°C'de reaksiyona sokulduğunda halka kapanması gerçekleşerek ara ürün (Bileşik 1) elde edilmiştir. Ara ürünü saflaştırmak için reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra 50 mL'lik buzlu suya dökülerek oluşan süspansiyonun içerisindeki sakızımsı çözelti sertleşene kadar su banyosunda bekletilmiştir. Ham ürünü toplamak için çökelti su ile yıkanarak üç defa ekstrakte edilmiştir. Süzülen organik faz daha sonra sıcakta tam, oda koşullarında az çözdüğü tespit edilen etanol ile kristallendirilmiştir. %71 verim ile elde edilen Bileşik 1'in erime noktası 260°C-261°C olarak tayin edilerek ve aynı zamanda spektroskopik yöntemler yoluyla karakterize edilerek literatürle doğrulanmıştır. Elde edilen kinolinon bileşiği daha sonraki basamaklar için anahtar bileşik olarak kullanılmakla beraber çeşitli aldehit yapılarıyla aldol kondenzasyonu koşullarında reaksiyona sokulmuştur. Bunun için ortama EtOH VE NaOH ilave edilerek reaksiyonlar gece boyu karışmaya bırakılmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ortam pH:3 olacak şekilde %10'luk HCl ile asitlendirilmiştir. Elde edilen asidik karışımların (3×8) ml'lik saf su ile yıkanarak çökelek oluşturmaları beklenmiştir. Reaksiyon sonlarında çökelek oluşturanlar saf su ile yıkanarak etanol üzerinden kristallendirilmiştir. Çökelek oluşturmamayanlar ise DCM veya Etil Asetat/Hekzan ile ekstrakte edilerek kolon kromatografisi yöntemiyle saflaştırılmıştır. Bu yöntemler ile hedef bileşiklere %40-%80 verimler ile ulaşılmıştır. Hedef yapılar daha sonra ¹H NMR, ¹³C NMR spektroskopisi ve QTOF/ GC-MS spektrometresi ile karakterize edilmiştir.



Sentezlenen bileşiklerden Bileşik 2'nin ^1H NMR spektrumu değerlendirildiğinde 9 numaralı amid protonunun $\delta=13$ ppm civarında singlet olarak rezonans olduğu spektral veriler kısmında görülmektedir (Şekil 6.7). $\delta = 8.2$ ppm'de 3 numaralı aromatik -CH dublet proton piki rezonans olmaktadır. Yapıda bulunan α , β protonlarından (19 ve 20) $\delta = 6.69$ ppm β protonuna ait dublet yarılmayı, $\delta = 6.85$ ppm α protonuna ait dublet yarılmayı göstererek kalkon yapısının varlığını doğrulamaktadır. Bunun dışında aromatik halkaya bağlı protonlar birbiri içerisinde orto ve meta etkileşimlerine girerek yarılmalara uğramıştır. $\delta = 7-8$ ppm arasında çıkan pikler ise bu sebeple aromatik halkaya bağlı multiplet protonlar olarak değerlendirilmiştir.

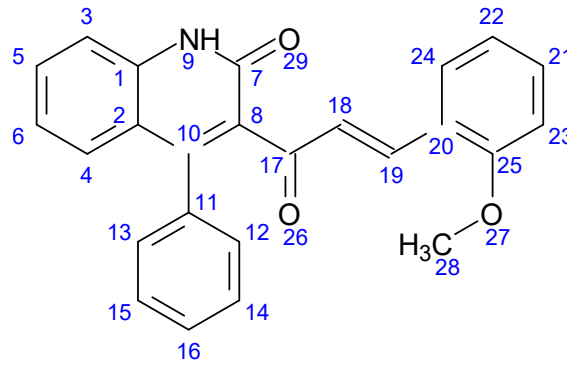
Benzer şekilde ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 22 C sinyali görülmektedir. $\delta = 193.74$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 162.03$ ppm'de 18 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 150.66$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 142.06$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 138.63$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı C piklerinin sinyalleridir. Bu veriler kapsamında Bileşik 2'nin yapısı net olarak aydınlatılmıştır (Şekil 6.8).



Sentezlenen bileşiklerden Bileşik 3'ün ^1H NMR spektrumu değerlendirildiğinde 9 numaralı amid protonunun $\delta=12.5$ ppm civarında singlet olarak rezonans olduğu

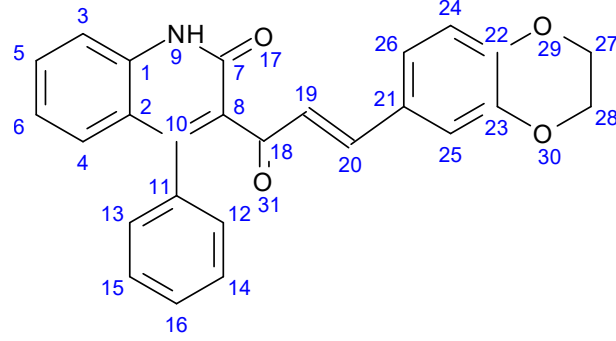
spektral veriler kısmında görülmektedir (Şekil 6.13). Yapıda bulunan α , β doymamış protonlarından (19 ve 20) $\delta = 6.25$ ppm β protonuna ait dublet yarılmayı, $\delta = 6.88$ ppm α protonuna ait dublet yarılmayı göstererek kalkon yapısının varlığını ispatlamaktadır. Bunun dışında aromatik halkaya bağlı protonlar birbiri içerisinde orto ve meta etkileşimlerine girerek yarılmalara uğramıştır. $\delta = 7-8$ ppm arasında çıkan pikler bu sebeple aromatik halkaya bağlı multiplet protonlar olarak değerlendirilmiştir.

Benzer şekilde ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 22 C sinyali görülmektedir. $\delta = 194.16$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 161.92$ ppm'de 18 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 145.93$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 138.61$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 134.50$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı C piklerinin sinyalleridir. Bu veriler kapsamında Bileşik 3'ün yapısı net olarak aydınlatılmıştır (Şekil 6.14).



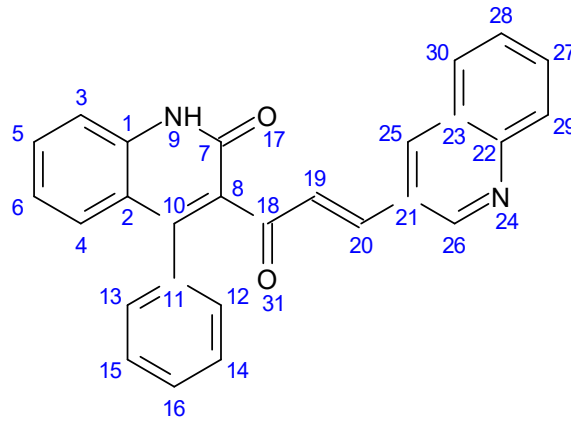
Sentezlenen bileşiklerden Bileşik 4'ün ^1H NMR spektrumu değerlendirildiğinde 9 numaralı amid protonunun $\delta=12.53$ ppm civarında singlet olarak rezonans olduğu spektral veriler kısmında görülmektedir (Şekil 6.19). Yapıda bulunan $-\text{CH}_3$ protonlarının (28 numara) çevresinde etkileşime girebileceği başka bir proton olmadığı için $\delta= 3.71$ ppm'de uzun singlet piki olarak rezonans olması beklenen durumdur. Metoksi grubunun bağlı olduğu benzen halkasındaki protonlar $\delta = 7.77$ ppm ve $\delta = 6.87$ ppm'de multiplet olarak rezonans olmaktadır. Kalkon yapısını oluşturan α , β protonlarının (18 ve 19) dublet yarılması ise $\delta = 6.91$ civarında sinyal vermiştir. $\delta = 7.54$ ppm'de net bir şekilde gözlenen dublet piki ise 3 numaralı protona aittir.

^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında ise 23 C piki tespit edilmiştir. $\delta=120$ ppm çevresinde 18 adet aromatik karbon piki görülmektedir. Karbonil karbonu ve vinilik karbon pikleri de sırasıyla $\delta=194.88$ ppm (7 numara), $\delta = 162.01$ ppm (17 numara), $\delta=158.49$ ppm (8 numara) $\delta = 138.56$ ppm'de α -C atomu (18 numara), $\delta = 134.51$ ppm'de β -C atomu (19 numara) beklenildiği gibi rezonans olmaktadır. Tüm bu veriler ışığında Bileşik 4'ün yapısı aydınlatılmıştır.

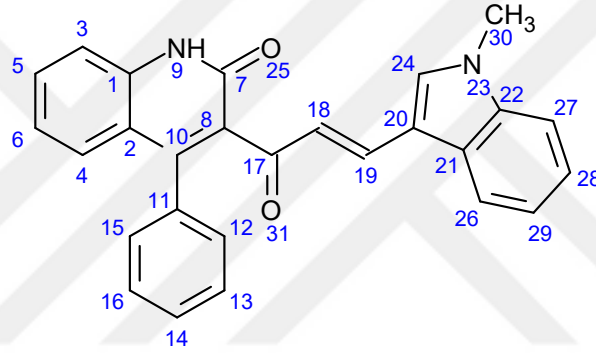


Bileşik 5'in ^1H NMR spektrumu incelendiğinde 9 numaralı amid protonu $\delta =12.11$ ppm'de rezonans olmuştur (Şekil 6.25). 19 ve 20 numaralı α ve β protonlarının dublet piki $\delta =6.61$ ppm'de beklenildiği gibi gözlenmiştir. 27 ve 28 numaralı $-\text{CH}_2$ protonları ise birbirini triplete yaparak $\delta =4.35\text{-}4.14$ ppm aralığında sinyal vermektedir.

^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında ise madde miktarı yetersizliğinden C miktarı sayısı net okunamamaktadır; sadece dioksan yapısına bağlı olarak bulunan $-\text{CH}_2$ metilen gruplarının 27 ve 28 numaralı C atomları, $\delta = 60\text{-}70$ ppm aralığında iki pik olarak rezonans olması yapının doğruluğuna yaklaştırmaktadır (Şekil 6.26).

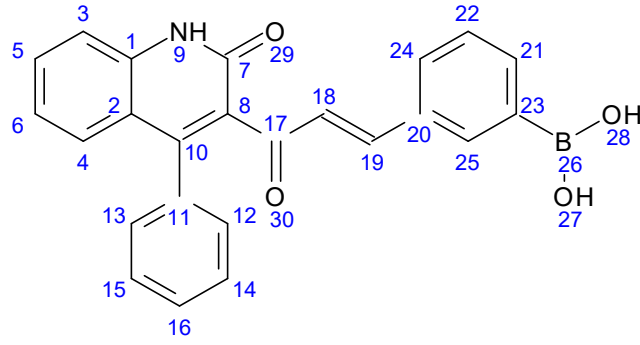


Bileşik 6'nın ^1H NMR spektrumu incelendiğinde 9 numaralı amid protonu $\delta = 13.07$ ppm'de rezonans olmuştur (Şekil 6.30). Yapıya bağlı olarak bulunan fenil ve kinolin halkalarının aromatik protonları $\delta = 7$ ppm civarında multiplet olarak rezonans olmaktadır. 19 ve 20 numaralı kalkon yapısını oluşturan α , β protonlarının dublet olarak yarılması $\delta = 7.26-7.30$ ppm'de okunmaktadır. Bileşik 6'nın ^{13}C NMR spektrumunda ise eşdeğer karbon atomlarının çoğunlukta olmasından dolayı 18 C atomu sinyal vermiştir. $\delta = 201.94$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 161.63$ ppm'de 18 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 149.04$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 138.29$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 134.32$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı karbonların sinyalleridir.



Bileşik 7'nin ^1H NMR spektrumu incelendiğinde 9 numaralı amid protonu $\delta = 13.07$ ppm'de rezonans olmuştur (Şekil 6.34). Yapıya bağlı olarak bulunan fenil halkalarının aromatik protonları $\delta = 7$ ppm civarında multiplet olarak rezonans olmaktadır. 18 ve 19 numaralı kalkon yapısını oluşturan α , β protonlarının dublet olarak yarılması $\delta = 7.30$ ppm civarında okunmaktadır. Yapıda bulunan pirol yapısına bağlı metil grubu ise spektrum üzerinden net bilgi almamızı sağlayan $\delta = 2.5$ civarında singlet olarak rezonans vermiştir.

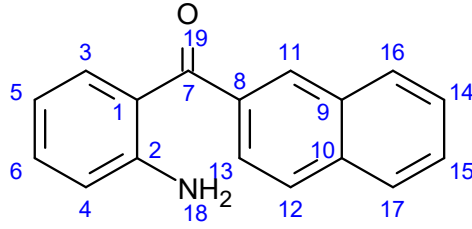
Bileşik 7'nin ^{13}C NMR spektrumunda ise eşdeğer karbon atomlarının varlığı 20 C atomu sinyali ortaya çıkarmıştır. $\delta = 201.95$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 161.61$ ppm'de 17 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 149.09$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 138.26$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 134.29$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı karbonların sinyalleridir (Şekil 6.35).



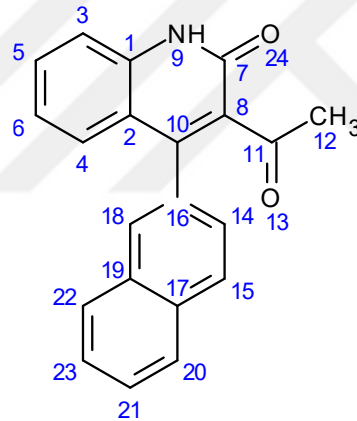
3-Formilfenil boronik asit bileşiği ile sentezi gerçekleştirilen Bileşik 8'in ^1H NMR sonucu değerlendirildiğinde, yapıdaki hidroksi gruplarının (27 ve 28 numara) protonlarının $\delta = 2-3$ ppm aralığında iki pik olarak rezonans olduğu görülmektedir. Yine aynı şekilde 9 numaralı amid protonunun $\delta = 13.16$ ppm'de sinyal piki gözükmemektedir. 3 numaralı proton sadece 5 numaralı proton ile etkileşime gireceği için $\delta = 8$ ppm civarında dublet olarak rezonans olmuştur. Spektrumda gözlenmesi gereken diğer dublet piki ise; 18 ve 19 numaralı α , β protonlarının yarılmasıdır. Birbirini dublete yaran protonlardan α protonu (18) karbonil grubunun perdeleme bölgesinde kaldığı için $\delta = 6.97$ ppm'de aşağı alanda rezonans olmuştur. Bunun dışında; yapıdaki fenil ve kinolin halkalarının aromatik protonlarının $\delta = 7$ ppm civarında multiplet olarak rezonans olduğu görülmektedir (Şekil 6.38).

Bileşik 8'in ^{13}C NMR spektrumunda ise, toplam 19 C sinyali okunmaktadır. Aşağı rezonans bölgesinden yukarı alana doğru rezonans olması beklenen karbonlar sırasıyla, $\delta = 202.03$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 161.72$ ppm'de 17 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 149.08$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 138.32$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 134.32$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı C piklerinin sinyalleridir.

İlaveten bileşik 8 için hesaplanan molekül ağırlığı QTOF spektrumunda $m/z = 396,140$ g/mol $(\text{M}+\text{H})^+$ olarak görülmektedir. Hesaplanan değerle aynı çıkması; $m/z = \text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{BNO}_4$ hesaplanan; $395,215$ g/mol $[\text{M}^+]$ yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 6.40).

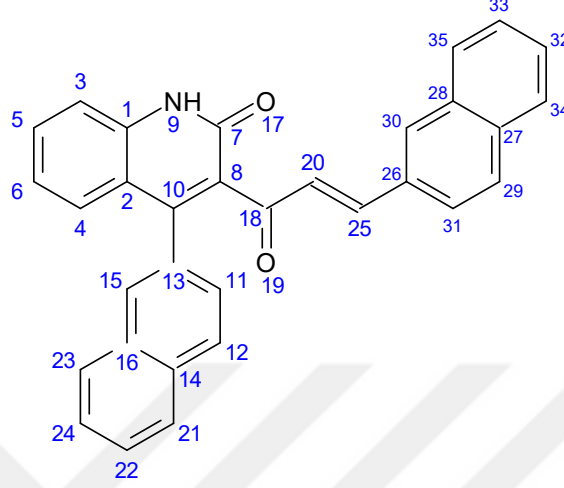


Bileşik 9'un ^{13}C NMR spektrumunda 17 C piki çıkması yapıdaki karbon sayısını doğrulamaktadır. $\delta=198.99$ ppm'de 7 numaralı karbonil karbonu rezonans olmuştur. 1 numaralı kuaterner karbon atomu $\delta=150.97$ ppm'de, 2 numaralı kuaterner karbon atomu ise $\delta=137.31$ ppm'de rezonans olmuştur. Yapıdaki fenil ve naftalin grubunun protonları ise aromatik olduğu için 120 ppm çevresinde sinyal vermektedir (Şekil 6.45). İlâveten bileşik 9 için hesaplanan molekül ağırlığı QTOF spektrumunda $m/z=248,107$ g/mol $(\text{M}+\text{H})^+$ olarak görülmektedir. Hesaplanan değerle aynı çıkması; $m/z= \text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}$ hesaplanan; 247,291 g/mol $[\text{M}^+]$ yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 6.46).



Bileşik 10'un ^1H NMR spektrumu incelendiğinde 9 numaralı amid protonu $\delta =12.89$ ppm'de rezonans olmuştur. 12 numaralı metil protonları $\delta =2.0$ ppm civarında singlet olarak rezonans olması beklenen sinyallerden biridir. Yapıya bağlı olan aromatik halkanın protonları ise birbiri içerisinde etkileşimde oldukları için $\delta =7.0$ ppm civarında multipler yarılmalara görülmektedir. Benzer şekilde ^{13}C NMR spektrumunda da beklendiği $\delta =30$ ppm civarında metil karbonu rezonans sinyali gözükmemektedir. $\delta=202.05$ ppm'de 7 numaralı karbonil karbonu rezonans olmuştur. $\delta=161.78$ ppm'de 11 numaralı karbonil karbonu rezonans olmuştur. 8 numaralı kuaterner karbon atomunun sinyal şiddeti ise $\delta=149.32$ ppm noktasında beklenildiği gibi gözükmemektedir.

İlaveten bileşik 10 için hesaplanan moleköl ağırlığı QTOF spektrumunda $m/z=314,117$ g/mol $(M+H)^+$ olarak görülmektedir. Hesaplanan değerle aynı çıkması; $m/z= C_{21}H_{15}NO_2$ hesaplanan; 313,349 g/mol $[M]^+$ yapıyı doğrulamaktadır (Şekil 6.51).

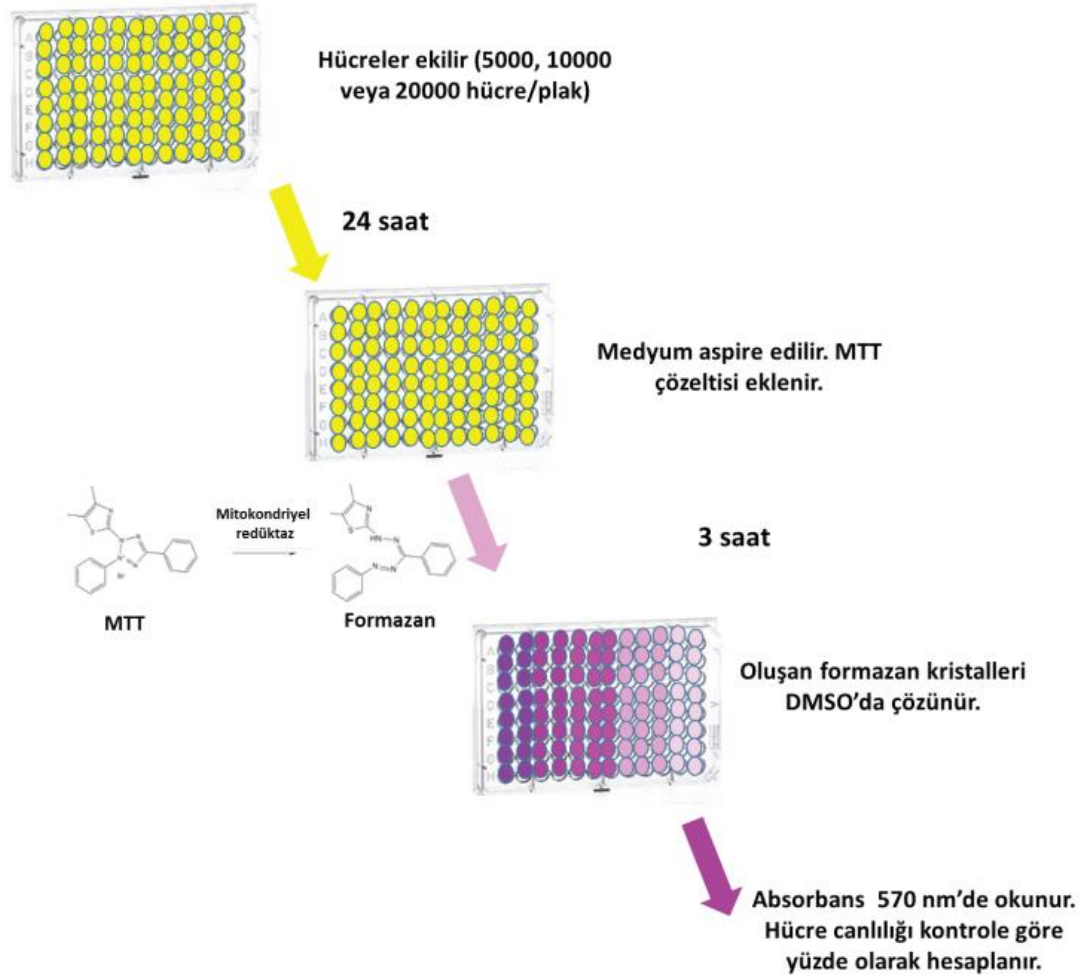


Bileşik 11'in ^1H NMR Spektrumuna bakıldığında ise; 9 numaralı amid protonunun $\delta=13$ ppm civarında singlet olarak rezonans olduğu spektral veriler kısmında görülmektedir (Şekil 6.54). $\delta = 8.66$ ppm'de 3 numaralı aromatik -CH dublet proton piki rezonans olmaktadır. Yapıda bulunan α , β protonlarından (20 ve 25) $\delta = 6.69$ ppm β protonuna ait dublet yarılmayı, $\delta = 6.88$ ppm α protonuna ait dublet yarılmayı göstererek kalkon yapısının varlığını doğrulamaktadır. Bunun dışında aromatik halkaya bağlı protonlar birbiri içerisinde orto ve meta etkileşimlerine girerek yarılmalara uğramıştır. $\delta = 7-8$ ppm arasında çıkan pikler ise bu sebeple aromatik halkaya bağlı multiplet protonlar olarak değerlendirilmiştir.

Benzer şekilde ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 28 C sinyali görülmektedir. $\delta = 193.74$ ppm'de 7 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 162.03$ ppm'de 18 numaralı C'ye ait C=O piki, $\delta = 150.66$ ppm'deki kuaterner 8 numaralı C atomunun piki, $\delta = 142.06$ ppm'de α -C atomu, $\delta = 138.63$ ppm'de β -C atomu rezonans olmaktadır. $\delta = 120$ ppm çevresi aromatik halkaya bağlı C piklerinin sinyalleridir. Bu veriler kapsamında Bileşik 11'in yapısı aydınlatılmıştır (Şekil 6.53).

7.2 Sentezlenen Bileşiklerin Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik ve antiproliferatif etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)- 2,5-diphenyl-2 tetrazolium bromide (MTT) testi uygulanmıştır. Bu işlemlerde kullanılan kinolinon türevlerinin dimetil sülfoksit (DMSO; Sigma Aldrich, UK)(5 mg/ml)'da stok çözeltileri hazırlandıktan sonra istenilen konsantrasyonlarda medyum ile aspire edilerek üzerine MTT çözeltisi eklenmiştir. MTT testinde MCF-7 hücreleri her kuyuda 5×10^3 hücre olacak şekilde 96 kuyulu test kabına ekilerek farklı konsantrasyonlarda uygulanmış ve 37°C, 5% CO₂'de etüv içerisinde 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda ELISA (EL x 808) cihazında 570 nm okutularak her konsantrasyon için canlılıkları hesaplanmıştır.

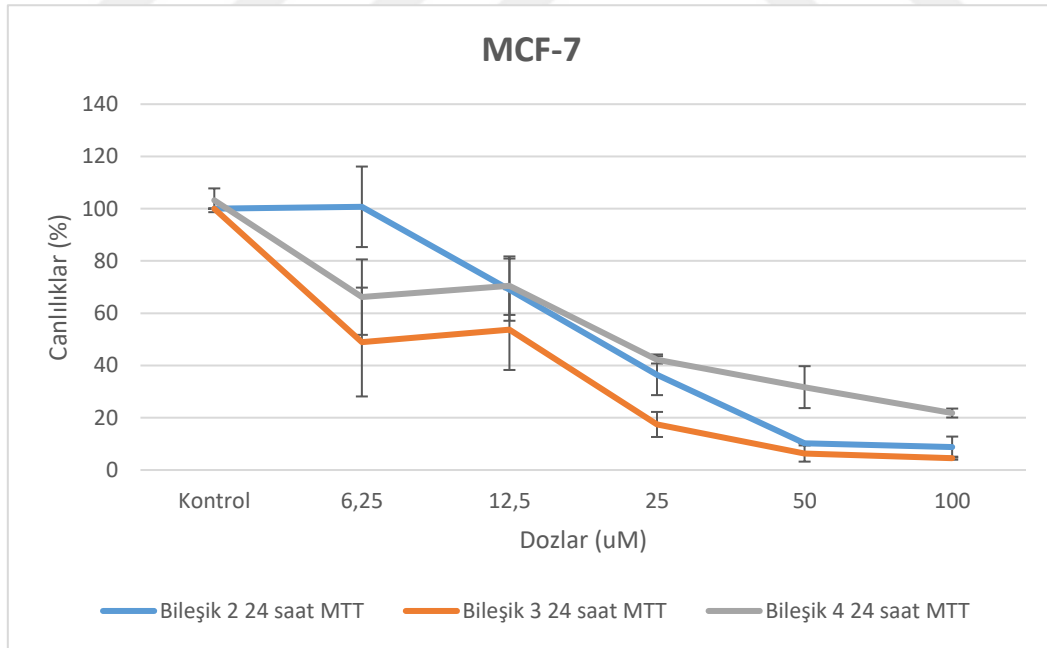


Şekil 7.1 MTT Testinin Uygulama Metodu

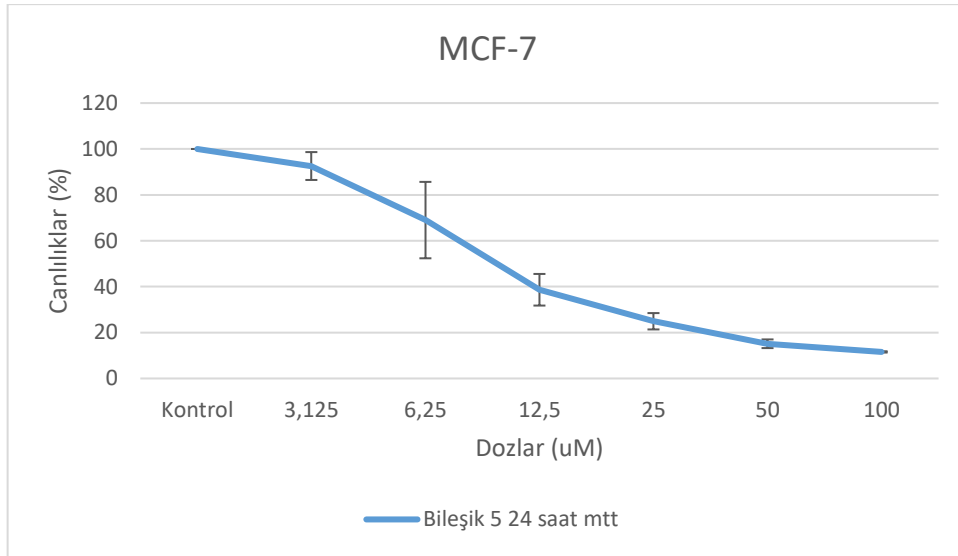
Kontrol grubunun absorbans değerine göre kuyucuklardaki absorbans değerlerinin yüzdesi “Sitotoksosite (%) = Doz grubunun absorbansı x 100 / Kontrol grubunun absorbansı” formülüne göre hesaplanmıştır. Kontrol grubuna göre % 50 oranında hücre ölümüne neden olan doz hesaplanarak, IC₅₀ değeri olarak kabul edilmiştir.

Tablo 7.1 Çeşitli konsantrasyonlardaki (µg/ml) bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı

	Hücre	Konsantrasyon (µg/mL)			
	MCF-7	6,25	12,5	25	50
Bileşik 2	100	100,71	69	36,43	10,24
Bileşik 3	100	48,97	53,73	17,43	6,3
Bileşik 4	100	66,15	70,53	42,14	31,71
Bileşik 5	100	69,01	38,66	24,93	15,13
Bileşik 6	100	98,88	60,05	80,94	88,3
Bileşik 7	100	104,73	128,96	99,04	112,86

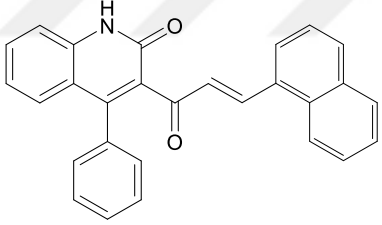
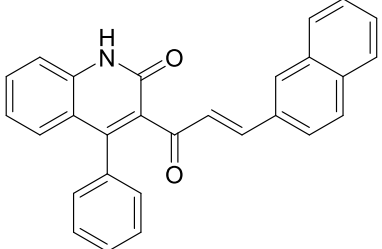


Şekil 7.2 Çeşitli konsantrasyonlardaki bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı

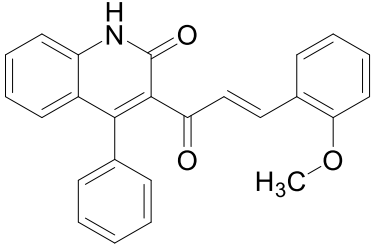
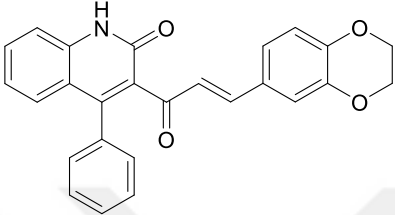
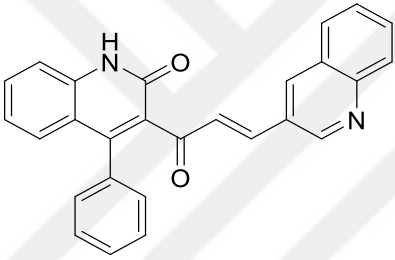
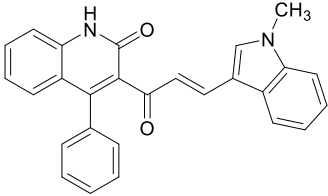


Şekil 7.3 Çeşitli konsantrasyonlardaki bileşikler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinde 24 saat sonra canlı kalan hücrelerin % oranı

Tablo 7.2 24 saat sonunda bileşiklerin IC₅₀ değerleri

Bileşikler	MCF-7 (IC ₅₀ µg/mL)
 Bileşik 2	19,79 µg/mL
 Bileşik 3	7,6 µg/mL

Tablo 7.2 24 saat sonunda bileşiklerin IC₅₀ değerleri (devamı)

 Bileşik 4	21,54 µg/mL
 Bileşik 5	10,17 µg/mL
 Bileşik 6	> 50 µg/mL
 Bileşik 7	> 50 µg/mL

Proliferasyon MTT testi üzerinden değerlendirilmiştir. Test edilen bileşikler ile solvent kontrol grubunun absorbans değeri kıyaslanarak % cinsinden ölen hücre sayısı (Inhibisyon konsantrasyonu, relatif inhibisyon aktivitesi, IC) hesaplanmıştır. IC₅₀, enzimin %50'sini inhibe eden inhibitör konsantrasyonu olup düşük IC₅₀ yüksek inhibisyon değerini göstermektedir.

Test örneği yerine test maddesinin çözeltisini içeren kuyucukların (solvent kontrollerin) absorbans değerleri %100 canlılığı göstermektedir. Sentezlenen bileşiklerin 24 saat sonundaki IC₅₀ değerleri Tablo 7.2'de gösterilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin gösterdiği biyolojik aktiviteler in vitro koşullar altında incelenip, değerlendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerin farklı konsantrasyonları ile inkübe edilen MCF-7 meme kanseri hücrelerinin canlılık oranları uygulanan doza bağlı olarak azalan bir grafik vermiştir (Şekil 7.2, Şekil 7.3). Bileşik 2' nin MCF-7 meme kanseri hücrelerindeki IC₅₀ değeri 19,79 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Bileşik 3 ve Bileşik 4' ün MCF-7 hücrelerindeki IC₅₀ değerleri sırasıyla 7,6 µg/ml ve 21,54 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak Bileşik 3 ve 4'ün MCF-7 hücrelerindeki canlılık oranlarının 12,5 µg/ml konsantrasyonda 6,25 µg/ml konsantrasyona göre daha yüksek çıkması gibi durumlar IC₅₀ değerinin altındaki konsantrasyonlar için normal karşılanmaktadır. Bileşik 5 için hesaplanan IC₅₀ değeri 10,17 µg/ml ve Bileşik 6 ve 7 için değerlendirilen canlılık testleri >50 µg/mL üzerinde tespit edilmiştir. Bileşiklerin MCF-7 hücrelerindeki MTT Assay testleri incelendiğinde; bileşik 3 ve 5'in en çok hücre öldürdüğü saptanmıştır. Yüksek konsantrasyonda bileşik 2 ve 4'ün de hücreleri öldürdüğü gözlemlenmiştir. Yani belirlenen konsantrasyonların altındaki değerlerde güvenle kullanımları mümkündür. Bileşik 6 ve 7'nin MCF-7 hücrelerindeki MTT Assay testine bakıldığında ise; iki bileşiğin de IC₅₀ değerleri >50 µg/mL üzerinde çıkmasından dolayı yüksek inhibisyona sahip olmadığı ve hücreleri öldürmede yetersiz kaldığı tespit edilmiştir. Sentezlediğimiz bileşiklerin heteroaril gruplarının biyoaktif olmalarından dolayı sentezlenen ilaç adaylarının Seranib-2 bileşiğinden biyoaktivitelerinin istenildiği şekilde yüksek çıkması beklenen bir durumdur. Bu veriler, bileşiklerin, bir veya daha fazla seramidaz enziminin aktivitesini inhibe ederek, seramid türlerinin birikmesine neden olabileceğini ve seramidaz aktivitesinin ürünü olan sfingosin seviyelerini azaltacağını öngörmektedir. Sonuç olarak; yeni fenil kinolinonlarının spesifik dozlarının MCF-7 hücre hatlarında hücre canlılığını doza ve zamana bağlı olarak azalttığı ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.

-
- [1] Hart, H., Hart, D., Craine, E., 1998, "Organic Chemistry", 9th edition, Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- [2] Shang, Xiao-Fei; Morris-Natschke, Susan L.; Liu, Ying-Qian; Guo, Xiao; Xu, Xiao-Shan; Goto, Masuo; Li, Jun-Cai; Yang, Guan-Zhou; Lee, Kuo-Hsiung (2017).
- [3] Shamma M., The Isoquinoline Alkaloids Chemistry and Pharmacology, 2012
- [4] Manske R.H. The chemistry of quinolines. Chem Rev. 1942;30:113-144.
- [5] White, N.J. (2004) Antimalarial Drug Resistance. J.Clin.Invest., 113: 1084-1092.
- [6] Li, Lian-Hua; Niu, Zhi-Jie; Liang, Yong-Min, Organocatalyzed Synthesis of Functionalized Quinolines. Chemistry – An Asian Journal, 2019.
- [7] Gottlieb, D., Shaw, P.D., 1967. Antibiotics II, Biosynthesis. Spiringer Verlag Inc., New York. p.105.
- [8] Sukhova, N., M., Lidak, M., Zidermane, A., Pelevina, I., S., Voronia, S., S., 1989. Khim-Farm. Zh., 23, 1226.
- [9] Patel, H., V., Vyas, K., V., Fernandes, P., S., 1990. Synthesis of substituted(3',5'dimethyl-1H-pyrazol-1 -yl)quinolines and evaluation of their biological activities. Indian J. Chem. Sec. B., 29B, 836.
- [10] Lilienkampf, A.; Mao, J.; Wan, B.; Wang, Y.; Franzblau, S. G.; Kozikowski, A. P. J. Med. Chem. 2009
- [11] Dube, D.; Blouin, M.; Brideau, C.; Chan, C. C.; Desmarais, S.; Ethier, D.; Falgoutret, J. P.; Friesen, R. W.; Girard, M.; Girard, Y.; Guay, J.; Riendeau, D.; Tagari, P.; Young, R. N. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 1255-1260.
- [12] Gomez, C.M.M., Kouznetsov, V.V., Sortino, M.A., Alvarez, S.L. and Zacchino, S.A. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 16, 7908-7920, 2008.
- [13] Ökten S, Çakmak O, Tekin Ş. 6,8-Disubstitüe kinolin analoglarının anti kanser ajanlar olarak yapı aktivite (SAR) çalışması. Turk J Clin Lab 2017; 8(4): 152-159.
- [14] Shang, Xiao-Fei; Morris-Natschke, Susan L.; Liu, Ying-Qian; Guo, Xiao; Xu, Xiao-Shan; Goto, Masuo; Li, Jun-Cai; Yang, Guan-Zhou; Lee, Kuo-Hsiung (2017).
- [15] Gisela C. Muscia; Mariela Bollini; Juan P. Carnevale; Ana M. Bruno; Silvia E. Asís (2006).
- [16] Manske, R. H. F.; Kukla, M.(1953). The Skraup Synthesis of Quinolines. Organic Reactions, 7, 59.
- [17] Bergstrom, F. W. (1944). Heterocyclic Nitrogen Compounds. Part IIA. Hexacyclic Compounds: Pyridine, Quinoline, and Isoquinoline, Chemical Reviews, 35, 77- 277.

- [18] Jones, G. (1977). In *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*; Weissberger, A.; Taylor, E.C., Eds.; John Wiley and Sons: Chichester, 32, Part I, 93-318.
- [19] Ökten S., Çakmak O., *Türk Fen ve Sağlık Dergisi*, 124-132, 2021
- [20] Cheng CC, Yan SJ, *The Friedländer Synthesis of Quinolines*. *Org. React.* 1982; 28:37.
- [21] Manske, R.H.F., 1942, "Camps Quinoline Synthesis", *Chem., Rev.*, 30, 177.
- [22] Manske, Richard H. F. (2004). *Organic Reactions || The Skraup Synthesis of Quinolines*.
- [23] Ginsburg, D., *Concerning Amines*. Pergamon Press, Oxford, 1967, p. 65.
- [24] Combes, A (1888). *Bull. Chim. Soc. France*. 49: 89
- [25] Bergstrom, F. W. (1944). "Heterocyclic Nitrogen Compounds. Part IIA. Hexacyclic Compounds: Pyridine, Quinoline, and Isoquinoline". *Chem. Rev.* 35 (2): 156.
- [26] O. Doebner; W. v. Miller (1881). Ueber eine dem Chinolin homologe Base. , 14(2), 2812–2817.
- [27] Moore, A. Skraup Doebner–von Miller Reaction. In *Name Reactions in Heterocyclic Chemistry*; Li, J. J., Corey, E. J., Eds.; Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2005, 488–494. (Review).
- [28] Li, Jie Jack (2009). *Name Reactions || Doebner–von Miller reaction.* , 10.1007/978-3-642-01053-8 (Chapter 84), 196–197.
- [29] Doebner, O.; Miller, W. V., *Ber.* 1884, 17, 1712.
- [30] Povarov, L. S., *Russian Chem. Rev.*, 1967, 36, 656
- [31] Ghashghaei, Ouldouz; Masdeu, Carme; Alonso, Concepción; Palacios, Francisco; Lavilla, Rodolfo (2018). Recent advances of the Povarov reaction in medicinal chemistry.
- [32] Varala, R.; Enugala, R.; Adapa, S. R., *Synthesis*, 2006, 3825
- [33] Bergstrom, F. W., *Chem. Rev.*, 1944, 35, 156. (Review)
- [34] Camps, R., *Arch. Pharm.*, 1901, 239, 591.
- [35] Jones, C.P., Anderson, K.W., Buchwald, S.L., 2007, "Camps Quinoline Synthesis", *J. Org. Chem.*, 72, 7698-7973.
- [36] Reynolds, G.A., and Hauser, C.R., 1955, *Org. Synth., Coll.*, 3, 593.
- [37] *Synthetische Versuche mit dem Acetessigester* Justus Liebig's *Annalen der Chemie* Volume 236, Issue 1–2, Date: 1886, Pages: 69–115 Ludwig Knorr
- [38] The Conversion of Benzoylacetanilides into 2- and 4-Hydroxyquinolines B. Staskun *J. Org. Chem.* 1964; 29(5); 1153–1157.
- [39] Krataş E., 1,3,5- Triazin ve Süstitüe Hidroksikinolin Türevlerinin Sentezi ve Metal Komplekslerinin İncelenmesi, Selçuk Üni., 2013
- [40] Tüzün C., (1999), "Organik Kimya", Palme Yayın, Ankara.

- [41] Çiçek M., Kinolin Triazol Grupları İçeren Heterohalkalı Hibrit Bileşiklerin Sentezi, Gebze Teknik Üni., 2019
- [42] Joule J.A., Mills K., (2010), "Heterocyclic Chemistry", Wiley, United Kingdom.
- [43] Von Niementowski, St. (1894). Synthesen von Chinazolinverbindungen. Journal for Praktische Chemie, 51(1), 564–572.
- [44] Futreal PA. Kasprzyk A. Birney E. Mullikin JC. Wooster R. Stratton M. (2001). Cancer and genomics. Nature 6822: 850-2
- [45] Aras M., Ceranib-2 Ve Miglustat Inhibitörleriyle Hücre İçi Seramid Miktarının Arttırılması Durumunun Meme Kanseri Üzerindeki Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, 2021
- [46] Eroğlu C. PC-3 ve LNCaP Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Ferulik Asitin Etkisinin Araştırılması. Pamukkale Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. TıbbiBiyoloji Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Denizli. Aralık 2014.
- [47] İçli, F., ve Akbulut H. Onkolojiye Giriş. "İn. için G, Biberoglu K, Süleymanlar G ve ark.; eds." İç Hastalıkları. Güneş Kitapevi (2005): 2007-2014.
- [48] Köktürk, N., Kırısoğlu, C., E. & Öztürk, C., (2003), Akciğer Kanseri Moleküler Biyolojisi, 5-3 (s. 127-138),
- [49] Telkoparan P., Tazebay U., Ras Protein Ailesi: Hücresel İşlevi, Moleküler Kontrolü, Orkogenezdaki Rolü, Türk Biyokimya Dergisi, 36(4); 367-373, 2011
- [50] Aykan, F., Kanser Oluşum Mekazımları, 2015
- [51] Lewin B. Genes, 1997, 1089
- [52] Fearnhead HO. (2004). Getting back on track, or what to do when apoptosis is de-railed: recoupling oncogenes to the apoptotic machinery. Cancer Biol Ther. 3(1):21-8.
- [53] Yokuş B. Mete N. (2003). Oksidatif DNA hasarı. Klinik Laboratuar Araştırma Dergisi. 7(2); 51-64
- [54] Scriver CR. Beaudet AL, Sly WS., Valle D. (2001). The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease. McGraw-Hill; 613-74.
- [55] Spandidos D. A. (1985). Mechanism of carcinogenesis: the role of oncogenes, transcriptional enhancers and growth factors. Anticancer research, 5(5), 485–498.
- [56] Yokuş B., Çakır D., Ü., (2012). Kanser Biyokimyası, Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 1(2):7-18
- [57] İrgit A., Kanserin Genetiği: Onkogenler ve Tümör Süpressör Genler, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2020
- [58] Onat T. Emerk K. Sözman EY. (2002). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme yayıncılık 569-75.
- [59] Nanda MS, Sameer AS, Syeed N, Shah ZA, Murtaza I, Siddiqi MA, Ali A. Genetic aberrations of the k-ras proto-oncogene in bladder cancer in kashmiri population. Urol J. (2010);7:168-73

- [60] Capon DJ, Chen EY, Levinson AD, Seeburg PH, Goeddel DV. Complete nucleotide sequences of the T24 human bladder carcinoma oncogene and its normal homologue. *Nature*. (1983);302:33-7
- [61] Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*. (2007);7:295-308.
- [62] Aslan P., Çapar E., Koşar A., Mesane Kanseri ve RAS proto-onkogenleri, *Yeni Üroloji Dergisi*, 2012; 7(1):55-58
- [63] Vicente-Dueñas, C., Romero-Camarero, I., Cobaleda, C., & Sánchez-García, I. (2013)
- [64] Corn PG., El-Deiry WS. (2002). Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays* 1: 83-90.
- [65] Pazarbaşı, A. & Kasap, M., (2003), *Kanser Genetiği*, 12:328
- [66] Kopnin BP. (2000). Targets of onkogenes and tümör suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 1: 2-27.
- [67] Cooper GM. *The Cell, A Molecular Approach*, 1997, 521.
- [68] Ekmekçi A, Erbaş D. *Kanserin Moleküler Mekanizması*, 1991, 44, Ankara
- [69] Pasternak JJ. *An introduction to Human Molecular Genetics*, 1999, 365.
- [70] Mange EJ & Mange AP. *Basic Human Genetics*, 1999, 365. Second Ed.
- [71] Ponnusamy, S., Meyers-Needham, M., Senkal, C.E., Saddoughi, S.A., Sentelle, D., Selvam, S.P., et al., 2010. Sphingolipids and cancer: ceramide and sphingosine-1-phosphate in the regulation of cell death and drug resistance. *Future Oncol.* 6 (October (10)), 1603–1624.
- [72] Hannun, Y.A., Obeid, L.M., 2018. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19 (March (3)), 175–191.
- [73] Yu RK, Law J.H., 2009. Herbert Edmund Carter 1910–2007 – a Biographical Memoir. National Academy of Sciences, Washington, DC, USA.
- [74] Vanhoutte, B., Rombaut, R., Dewettinck, K., Van der Meeren, P., 2004. Phospholipids. In: *Food Analysis*, 2nd edn (edited by L.M.L. Nollet), 349- 382.
- [75] Rombaut, R., Camp, J.V., Dewettinck, K., 2006. Phospho- and sphingolipid distribution during proccessing of milk, butter and whey. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 435- 443.
- [76] Perry, R.J., Ridgway, N.D., 2005. Molecular mechanisms and regulation of ceramide transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1734 (June (3)), 220–234.
- [77] Hannun, Y. A., & Obeid, L. M. (2008). Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, 139–150.
- [78] Ogretmen, B., & Hannun, Y. A. (2004). Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment. *Nature Reviews. Cancer*, 4, 604–616

- [79] Spiegel, S., & Milstien, S. (2003). Sphingosine-1-phosphate: an enigmatic signalling lipid. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4, 397–407.
- [80] Arana, L., et al., Ceramide and ceramide 1- phosphate in health and disease. *Lipids Health Dis*, 2010. 9: p. 15.
- [81] Seitz, A.P., et al., Ceramide and sphingosine in pulmonary infections. *Biol Chem*, 2015. 396(6-7): p. 611-20
- [82] Topçu D., Öztaş Y., Lay İ., Ceramides and Their Relation with Diseases, *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2018; 16(3): 177-187
- [83] Başpınar M., Kanserli Kolon Hücre Dizisinde Seranib-2 Maddesinin Apoptoz Oluşumuna Ve Hücre Yaşamına Olası Etkiler, *Tıpta Uzmanlık Tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi*, 2015
- [84] Pralhada Rao, R., et al., 2013. Sphingolipid metabolic pathway: an overview of major roles played in human diseases. *J. Lipids* 2013, 178910.
- [85] Olivera A, Spiegel S., 2001, Sphingosine kinase: a mediator of vital cellular functions. *Prostaglandins*; 64:123–34.
- [86] Spiegel S, Milstien S., 2002, Sphingosine 1-phosphate, a key cell signaling molecule. *J Biol Chem*; 277:25851–4.
- [87] S.M. Mandala, Sphingosine-1-Phosphatases, *Prostaglandins* 64 (2001) 143–156.
- [88] A.H. Futerman, Y.A. Hannun, The complex life of simple sphingolipids, *EMBO Rep.* 5 (2004) 777–782.
- [89] Saied, E. M. ve Arenz, C. (2016). Inhibitors of ceramidases. *Chemistry and physics of lipids*, 197, 60-68.
- [90] Bernardo, K., Hurwitz, R., Zenk, T., Desnick, R. J., Ferlinz, K., Schuchman, E. H. ve Sandhoff, K. (1995). Purification, characterization, and biosynthesis of human acid ceramidase. *Journal of Biological Chemistry*, 270(19), 11098-11102.
- [91] Merrill AH Jr, Schmelz EM, Dillehay DL, Spiegel S, Shayman JA, Schroeder JJ, et al. Sphingolipids--the enigmatic lipid class: biochemistry, physiology, and pathophysiology. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 142: 208-25.
- [92] Wakita H, Tokura Y, Yagi H, Nishimura K, Furukawa F, Takigawa M. Keratinocyte differentiation is induced by cell-permeant ceramides and its proliferation is promoted by sphingosine. *Arch Dermatol Res* 1994; 286: 350-4.
- [93] Olivera A, Zhang H, Carlson RO, Mattie ME, Schmidt RR, Spiegel S. Stereospecificity of sphingosine-induced intracellular calcium mobilization and cellular proliferation. *J Biol Chem* 1994; 269: 17924-30.
- [94] Hauser JM, Buehrer BM, Bell RM. Role of ceramide in mitogenesis induced by exogenous sphingoid bases. *J Biol Chem* 1994; 269: 6803-9.
- [95] Jarvis WD, Fornari FA Jr, Auer KL, Freemerman AJ, Szabo E, Birrer MJ, et al. Coordinate regulation of stress- and mitogenactivated protein kinases in the apoptotic actions of ceramide and sphingosine. *Mol Pharmacol* 1997; 52: 935-47.

- [96] Hung WC, Chang HC, Chuang LY. Activation of caspase-3-like proteases in apoptosis induced by sphingosine and other long-chain bases in Hep3B hepatoma cells. *Biochem J* 1999; 338: 161-6
- [97] Sakakura C, Sweeney EA, Shirahama T, Hagiwara A, Yamaguchi T, Takahashi T, et al. Selectivity of sphingosine-induced apoptosis. Lack of activity of DL-erythro-dihydrosphingosine. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246: 827-30.
- [98] Cuvillier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1585: 153-62.
- [99] Taha, T. A., Mullen, T. D., & Obeid, L. M. (2006). A house divided: Ceramide, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate in programmed cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1758(12), 2027–2036.
- [100] Saied, E.M., Arenz, C., 2014. *Cell Physiol. Biochem.* 34, 197–212 (Switzerland, 2014)
- [101] Coant, N., Sakamoto, W., Mao, C., & Hannun, Y. A. (2017). *Advances in Biological Regulation*, 63, 122e131.
- [102] Saied, E. M., & Arenz, C. (2016). Inhibitors of Ceramidases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 197, 60–68.
- [103] Mashhadi Akbar Boojar, M., Mashhadi Akbar Boojar, M. and Golmohammad, S. (2018). Ceramide pathway: A novel approach to cancer chemotherapy. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 237–244.
- [104] He, X., et al., 2003. Purification and characterization of recombinant, human acid ceramidase. Catalytic reactions and interactions with acid sphingomyelinase. *J Biol. Chem.* 278, 32978–32986.
- [105] El Bawab, S., et al., 2000. Molecular cloning and characterization of a human mitochondrial ceramidase. *J. Biol. Chem.* 275, 21508–21513.
- [106] Hu, W., et al., 2010. Alkaline ceramidase 3 (ACER3) hydrolyzes unsaturated longchain ceramides, and its down-regulation inhibits both cell proliferation and apoptosis. *J. Biol. Chem.* 285, 7964–7976.
- [107] French, K.J., 2006. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 318, 596–603 (United States, 2006).
- [108] Elojeimy, S., et al., 2007. Role of acid ceramidase in resistance to FasL: therapeutic approaches based on acid ceramidase inhibitors and FasL gene therapy. *Mol. Ther.* 15, 1259–1263
- [109] Gouaze-Andersson, V., et al., 2011. Inhibition of acid ceramidase by a 2-substituted aminoethanol amide synergistically sensitizes prostate cancer cells to N-(4- hydroxyphenyl) retinamide. *Prostate* 71, 1064–1073.
- [110] Szulc, Z.M., et al., 2008. Novel analogs of D-e-MAPP and B13 Part 1: synthesis and evaluation as potential anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 1015–1031.
- [111] Cheng, J.C., et al., 2013. Radiation-induced acid ceramidase confers prostate cancer resistance and tumor relapse. *J. Clin. Invest.* 123, 4344–4358.

- [112] Park, J.H., Schuchman, E.H., 2006. *Biochim. Biophys. Acta* 1758, 2133–2138 (Netherlands, 2006).
- [113] Eliyahu, E., Park, J.H., Shtraizent, N., He, X., Schuchman, E.H., 2007. Acid ceramidase is a novel factor required for early embryo survival. *FASEB J.* 21, 1403–1409
- [114] Eliyahu, E., Shtraizent, N., Shalgi, R., Schuchman, E.H., 2012. Construction of conditional acid ceramidase knockout mice and in vivo effects on oocyte development and fertility. *Cell Physiol. Biochem.* 30, 735–748.
- [115] Strelow, A., et al., 2000. Overexpression of acid ceramidase protects from tumor necrosis factor-induced cell death. *J. Exp. Med.* 192, 601–612.
- [116] Grijalvo, S., et al., 2006. Design, synthesis and activity as acid ceramidase inhibitors of 2-oxooctanoyl and N-oleoylethanolamine analogues. *Chem. Phys. Lipids* 144, 69–84.
- [117] Raisova, M., et al., 2002. Bcl-2 overexpression prevents apoptosis induced by ceramidase inhibitors in malignant melanoma and HaCaT keratinocytes. *FEBS Lett.* 516, 47–52.
- [118] Samsel, L., Zaidel, G., Drumgoole, H.M., Jelovac, D., Drachenberg, C., Rhee, J.G., Brodie, A.M., Bielawska, A., Smyth, M.J., 2004. The ceramide analog, B13, induces apoptosis in prostate cancer cell lines and inhibits tumor growth in prostate cancer xenografts. *Prostate* 58, 382–393.
- [119] Draper, J.M., et al., 2011. Discovery and evaluation of inhibitors of human ceramidase. *Mol. Cancer Ther.* 10, 2052–2061.
- [120] Horvath S. Cytotoxicity of drugs and diverse chemical agents to cell cultures. *Toxicology* 1980 ; 16 : 59 -66
- [121] Sliwka L, Wiktorska K, Suchocki P, Milczarek M, et al. The comparison of MTT and CVS assays for the assessment of anticancer agent interactions. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155722. DOI: 10.1371/journal.pone.0155772
- [122] Fotakis, G., Timbrell, J.A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160, 171–177.
- [123] Tuncer, S., Demirci, M. (2011), Dental Materyallerde Biyouyumluluk Değerlendirmeleri, The Evaluation Of Dental Materials Biocompatibility, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi. 21, (2),141-149.
- [124] Feoktistova, M., Geserick, P., Leverkus, M. (2016). Crystal Violet Assay for Determining Viability of Cultured Cells. *Cold Spring Harbor protocols*, (4)
- [125] Mosmann, T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65, 55–63.
- [126] Fotakis, G., Timbrell, J.A. (2006). In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160, 171–177.

- [127] Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD: Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. Cold Spring Harb Protoc 2018, 2018(6).
- [128] Paull KD, Shoemaker RH, Boyd MR, Parsons JL, Risbood PA, Barbera WA, Sharma MN, Baker DC, Hand E, Scudiero DA, Monks A, Alley MC, Grote M, 1988: The synthesis of XTT: A new tetrazolium reagent that is bio-reducible to a water-soluble formazan. J Heterocyclic Chem, 25, 911-914.
- [129] O'Brien, M. A., & Kirby, R. (2008). Apoptosis: A review of pro-apoptotic and anti-apoptotic pathways and dysregulation in disease. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, 18(6), 572-585. doi:10.1111/j.1476-4431.2008.00363.
- [130] M. A. O'Brien and R. Kirby, "Apoptosis: a review of pro-apoptotic and antiapoptotic pathways and dysregulation in disease," J Vet Emerg Crit Care., vol. 18, no. 6, pp. 572-585, 2008.
- [131] Grullich C, Sullards M, Fuks Z, et al. CD95 (Fas/Apo-1) signals ceramide generation independent of effector stage of apoptosis. J Biol Chem 2000; 275(12):8650-8656.
- [132] Kee T, Vit P, Melendez A. Sphingosine kinase signalling in immune cells. Clin Exp Pharmacol Physiol 2005; 32:153-161.
- [133] Minarowska A, Mirowski L, Karwowski A, et al. Regulatory role of cathepsin D in apoptosis. Folia Histochem Cytobiol 2007; 45(3):159-163.
- [134] Kim R, Emi M, Tanabe K. Role of mitochondria as the gardens of cell death. Cancer Chemother Pharmacol 2006; 57:545-553.
- [135] Güvenç T (2002): İnfeksiyöz bursal hastalığın immunoperoksidaz tekniği ile tanısı ve B lenfositlerde apoptozisin incelenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara
- [136] Akşit, H., Bildik, A. (2008) Apoptozis, Yüzüncü yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 19(1), 55-63.
- [137] Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. Cell, 100. 57-70.
- [138] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer. 1972;26(4):239-57.
- [139] Lindsay, K., Ryland, T.E., Fox, X.L., Thomas, P., Mark, K. (2011). Dysregulation of sphingolipid metabolism in cancer. Cancer Biology & Therapy, 11 (2), 138-149.
- [140]] Segui, B., Andrieu-Abadie, N., Jaffrezou, J.P., Benoist, H., Levade, T. (2006). Sphingolipids as modulators of cancer cell death: potential therapeutic targets. Biochimica et Biophysica Acta, 1758 (12), 2104-2120
- [141]] Segui, B., Andrieu-Abadie, N., Jaffrezou, J.P., Benoist, H., Levade, T. (2006). Sphingolipids as modulators of cancer cell death: potential therapeutic targets. Biochimica et Biophysica Acta, 1758 (12), 2104-2120
- [142] Adan, Aysun. "Bölüm 21." Kanser Moleküler Biyolojisi, 1. bs. haz. Yusuf Baran, Yağmur Kiraz ve Gizem Tuğçe Ulu. Ankara: Kısayol Yayıncılık. 2018.

- [143] H. M. Kutlu and G. Kuş, "Use of ceranib-2 in the treatment of lung cancer and breast cancer," U.S. Patent No. US20180235951A1, 2018
- [144] Berkada B. Meme Kanseri. 1. Baskı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi; 2000. p.41-69.
- [145] J. M. Draper, Z. Xia, R. A. Smith, Y. Zhuang, W. Wang, and C. D. Smith, "Discovery and Evaluation of Inhibitors of Human Ceramidase," American Association for Cancer Research, Mol Cancer Ther., vol. 10, no. 11, 2011.
- [146] Al-Masum, M., Ng, E., Wai, M. C., 2011. Palladium-catalyzed direct cross-coupling of potassium styryltrifluoroborates and benzoyl chlorides—a one step method for chalcone synthesis. Tetrahedron Lett., 52: 1008–1010.
- [147] Eddarir, S., Cotellet, N., Bakkour, Y., Rolando, C. 2003. An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction, Tetrahedron Lett., 44: 5359–5363.
- [148] Kumar, A., Sharma, S., Tripathi, V. D., Srivastava S., 2010. Synthesis of chalcones and flavanones using Julia-Kocienski olefination, Tetrahedron, 66: 9445-9449.
- [149] Bohm, A. 1998. Introduction to flavonoids, Harwood Academic Pub; London.
- [150] Zou, G., Guo, J., Wang, Z., Huang, W., Tang, J. 2007. Heck-type coupling vs. conjugate addition in phosphine-rhodium catalyzed reactions of aryl boronic acids with α,β -unsaturated carbonyl compounds: a systematic investigation, Dalton Trans., 28: 3055-3064.
- [151] Lunardi, F., Guzela, M., Rodrigues, A. T., Correa, R., Eger-Mangrich, I., Steindel, M., Grisard, E. C., Assreuy, J., Calixto, J. B., Santos, A. R. S., 2003. Tripanocidal and Leishmanicidal Properties of Substitution-Containing Chalcones, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1449-1451.
- [152] Rao, Y. K., Fang, S. H., Tzeng, Y. M., 2004. Differential Effects Of Synthesized 2'-Oxyanated Chalcone Derivatives: Modulation of Human Cell Cycle Phase Distribution, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12, 2679-2686.
- [153] Buolamwini, J. K., Addo, J., Kamath, S., Patil, S., Mason, D., Ores, M., 2005. Small Molecule Antagonists of the MDM2 Oncoprotein as Anticancer Agents, Current Cancer Drug Targets, 5, 57-68.
- [154] Herencia, F., Ferrandiz, M. L., Ubeda, A., Dominguez, J. N., Charris, J. E., Lobo, G. M., Alcaez, M. J., 1998. Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of Chalcone Derivatives, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 8, 1169-1174.
- [155] Rao, Y. K., Fang, S. H., Tzeng, Y. M., 2004. Differential Effects Of Synthesized 2'-Oxyanated Chalcone Derivatives: Modulation of Human Cell Cycle Phase Distribution, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12, 2679-2686.
- [156] Satyanarayana, M., Tiwari, P., Tripathi, B. K., Srivastava, A. K., Pratap, R., 2004. Synthesis And Antihyperglycemic Activity Of Chalcone Based Aryloxypropanolamines, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12, 883-889.
- [157] Powers, D. G., Casebier, D. S., Fokas, D., Ryan, W. J., Troth, J. R., Coffen, D. L., 1998. Automated Parallel Synthesis of Chalcone-Based Screening Libraries, Tetrahedron, 54, 4085-4096.

- [158] Matos, MJ., Vazquez-Rodriguez, S., Uriarte, E., Santana, L. 2015. Potential pharmacological uses of chalcones: a patent review (from June 2011 – 2014), *Expert Opin. Ther. Patents*, 25(3): 351-366.
- [159] Sapra S, Sharma K, Bhalla Y, Dhar KL (2016) Chalconoid Derived Heterocycles as Potent Bioactive Molecules: A Review. *Chem Sci J* 7: 129. doi:10.4172/2150-3494.1000129
- [160] Kayser, O. ve Kiderlen, A. F., In Vitro Leishmanicidal Activitiy of Naturally Occuring Chalcones, *Phytother. Res.*, 15 (2001) 148-152.
- [161] Nakamura, C., Kawasaki, N., Miyataka, H., Jayachandran, E., Kim, I. H., Kirk, K. L., Taguchi, T., Takeuchi, Y., Hori, H. ve Satoh, T., Synthesis And Biological Activities of Fluorinated Chalcone Derivatives, *Bioorg. Med. Chem.*, 10 (2002) 699-706.
- [162] Jovanovic B. Z., Mısıc-Vukovic M., Marinkovic, A. D., Csanadi, J., 1999. ¹³C Nmr Spectra Of Pyridine Chalcone Analogs, *Journal of Molecular Structure*, 482- 483, 371-374.

Konferans Bildirileri

1. Hatice Kotan, Lokman Torun, “Yeni Fenil Kinolinonların Sentezi Saflaştırılması, Karakterize Edilmesi Ve Sitotoksik Özelliklerinin İncelenmesi”, 33. Ulusal Kimya Kongresi, Türkiye Kimya Derneği & Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, 7-9 Ekim 2021, Tekirdağ

