



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİKANSER ETKİ GÖSTERMESİ OLASI
ETODOLAK ÜZERİNDEN TİYOETER BİLEŞİKLERİNİN
SENTEZİ**

Uzm. Kim. IŞIL ÇORUH
DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ş. GÜNİZ KÜÇÜKGÜZEL

İSTANBUL-2016



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTİKANSER ETKİ GÖSTERMESİ OLASI
ETODOLAK ÜZERİNDEN TİYOETER BİLEŞİKLERİNİN
SENTEZİ**

Uzm. Kim. IŞIL ÇORUH
DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ş. GÜNİZ KÜÇÜKGÜZEL

İSTANBUL-2016

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Farmasötik Kimya
Tez Sahibi : Işıl ÇORUH
Tez Başlığı : Antikanser Etki Göstermesi Olası Etodolak Üzerinden Tiyoeter Bileşiklerinin Sentezi
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Mustafa Nevzat Toplantı Salonu
Sınav Tarihi : 27.05.2016

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Kurumu

Prof.Dr. Ş.Güniz KÜÇÜKGÜZEL

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Gültaze ÇAPAN

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Prof.Dr. İlkey KÜÇÜKGÜZEL

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Prof.Dr. Meriç KÖKSAL

Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Yrd.Doç.Dr. Sevgi KARAKUŞ

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 16/06/2016 tarih ve 23 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

- Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
- Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

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

16.06.2016

İŞİL ÇORUH



I

Öncelikle, danışmanım olarak tezimin konu seçiminden planlanmasına bütün aşamalarında yardımcı olan, özgün değerlendirmeleri ve öngörülleri ile bana yol gösteren, tezimin gerek yazım aşamasında, gerekse de geliştirilmesi ve yayın için yeniden kaleme alınıp uyarlanmasında bana her türlü fikrî yardım ve içten desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ş. Güniz Küçükgülzel'e özel olarak teşekkür ederim. Hocamın sistemli disiplinli çalışmaya, özellikle karşılaştırmalı araştırma metoduna verdiği önem ve beni bu yönde sürekli yönlendirmesi, çalışmanın meydana gelmesi ve zenginleşmesinde dikkate değer bir yere sahiptir.

Akademik süreçte bana yol gösteren ve iş hayatıma adım atmamda bana önayak olan değerli Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. İlkay Küçükgülzel'e, diğer tüm kürsü hocalarıma, özellikle çalışmalarımın devamlılığını sağlamak adına içten desteklerini esirgemeyen değerli Hocam Öğr. Gör. Dr. Esra Tatar'a, ve tez izleme jüri üyeliğini yapmak suretiyle beni onurlandıran Hocam Prof. Dr. Gültaze Çapan'a teşekkür ederim.

Antikanser çalışmalar için Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Özge Dağdeviren Çevik'e teşekkür ederim.

Bunun yanında bütün yoğun temposu içinde kıymetli zamanını cömertçe vakfeden sevgili çalışma arkadaşım Ar. Gör. Göknıl Pelin Coşkun'a; tez sürecinde beni hiç yalnız bırakmayan ve yardımda bulunan tüm arkadaşlarıma, özellikle her türlü fikri yardım ve desteğini esirgemeyen yakın dostum Pınar Poyraz'a; sürekli yanımda olup sabır içinde sevgileriyle bana ilham veren aileme, kıymetli anneme, içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-041213-0451 numaralı proje ile desteklenmiştir.

II

İÇİNDEKİLER

1. Özet	15
2. Summary	16
3. Giriş ve Amaç	17
4. Genel Bilgiler	20
4.1. Etodolak Hakkında Genel Bilgiler	20
4.1.1. Etodolak ve Etodolak Türevlerinin Antikanser Etkinlikteki Yeri	20
4.1.2. Tiyoeter Bileşiklerinin Biyolojik Etkileri ve Antikanser Etkinlikteki Yeri	23
4.1.3. Metiyonin Aminopeptidaz Enzimi Hakkında Genel Bilgiler	32
5. Deneysel bölüm	34
5.1. Araç ve Gereçler	34
5.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	34
5.1.2. Kullanılan Elektronik Cihazlar	34
5.2. Genel Sentez Yöntemleri	35
5.3 Kromatografik Çalışmalar	37
5.4. Biyolojik Çalışmalar	37
5.4.1. Antikanser Aktivite Çalışmaları	37
5.4.2. Apoptoz Çalışmaları	38
5.5. Moleküler Modelleme Çalışmaları	40
6. Bulgular	41
1-{{[5-Benzilsulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5a]	41
1-{{[5-(4-Fluorobenzil)sulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5b]	46
1-{{[5-(2-Klorobenzil)sulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5c]	49

1-{{[5-(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5d]	54
1-{{[5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5e]	59
1-{{[5-(4-Metilbenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5f]	64
1-{{[5-(4-Nitrobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5g]	67
1-{{[5-Benzilsulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5h]	70
1-{{[5-(4-Fluorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5i]	75
1-{{[5-(2-Klorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5j]	78
1-{{[5-(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5k]	82
1-{{[5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5l]	86
1-{{[5-(4-Metilbenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5m]	89
1-{{[5-Benzilsulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5n]	92
1-{{[5-(4-Fluorobenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5p]	97
1-{{[5-(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5r]	100
1-{{[5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5s]	103

1-{{[5-(4-Metilbenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5t].....	106
1-{{[5-(4-Nitrobenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5v].....	109
7. Tartışma	112
7.1. FT-IR Bulguları.....	117
7.2. ¹ H-NMR Bulguları	118
7.3. ¹³ C-NMR Bulguları.....	123
7.4. Kütle Bulguları.....	125
7.5 HMCB Spektumları.....	129
7.6. Biyolojik Etkiler	133
7.6.1. Antikanser ve Apoptozis Etkileri.....	133
7.6.2. Moleküler Modelleme	145
8. Sonuç	148
9. Kaynaklar	149
10. Özgeçmiş	161

III

KISALTMALAR ve SİMGELER

Ar	: Aromatik
Ark.	: Arkadaşları
Bkz.	: Bakınız
¹³ C-NMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
COX	: Siklooksijenaz
d	: Dublet
dk.	: Dakika
DMSO-d ₆	: Döterodimetilsülfoksit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
e.b.	: Eğilme Bandı
E.n.	: Erime Noktası
g	: Gram
g.b.	: Gerilme Bandı
¹ H-NMR	: Proton nükleer manyetik rezonans
IR	: Kızılötesi (Infrared)
İ.T.K.	: İnce tabaka kromatografisi
MHz	: Megahertz
M.A.	: Molekül Ağırlığı
m	: Multiplet
ppm	: Parts per million (Milyonda Bir)
q	: Quartet
R _f	: Alıkonma Faktörü
s	: Singlet
y.s.	: Yaygın singlet
t	: Triplet
TMS	: Tetrametilsilan
v _{maks}	: Maksimum absorbsiyon gösteren dalga sayısı
λ _{maks}	: Maksimum absorbsiyon gösteren dalga boyu
δ	: Kimyasal Kayma
m/z	: Kütle/Yük
J	: Etkileşme Sabiti
IC ₅₀	: % 50 inhibitör konsantrasyon
DMF	: Dimetilformamit
HMBC	: Uzun mesafe proton ve karbon etkileşmelerinin korrelasyonu
MTT	: (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür
MetAP2	: Metiyonin aminopeptidaz 2 enzimi

IV

i. ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. Bileşik 5a IR Spektrumu	42
Şekil 2. Bileşik 5a ¹ H-NMR Spektrumu.....	43
Şekil 3. Bileşik 5a ¹³ C-NMR Spektrumu.....	44
Şekil 4. Bileşik 5a Kütle Spektrumu	45
Şekil 5. Bileşik 5b IR Spektrumu	47
Şekil 6. Bileşik 5b ¹ H-NMR Spektrumu	48
Şekil 7. Bileşik 5c IR Spektrumu.....	50
Şekil 8. Bileşik 5c ¹ H-NMR Spektrumu.....	51
Şekil 9. Bileşik 5c ¹³ C-NMR Spektrumu.....	52
Şekil 10. Bileşik 5c Kütle Spektrumu.....	53
Şekil 11. Bileşik 5d IR Spektrumu	55
Şekil 12. Bileşik 5d ¹ H-NMR Spektrumu	56
Şekil 13. Bileşik 5d ¹³ C-NMR Spektrumu	57
Şekil 14. Bileşik 5d HMBC Spektrumu	58
Şekil 15. Bileşik 5e IR Spektrumu.....	60
Şekil 16. Bileşik 5e ¹ H-NMR Spektrumu.....	61
Şekil 17. Bileşik 5e ¹³ C-NMR Spektrumu.....	62
Şekil 18. Bileşik 5e Kütle Spektrumu.....	63
Şekil 19. Bileşik 5f IR Spektrumu	65
Şekil 20. Bileşik 5f ¹ H-NMR Spektrumu	66
Şekil 21. Bileşik 5g IR Spektrumu	68
Şekil 22. Bileşik 5g ¹ H-NMR Spektrumu.....	69
Şekil 23. Bileşik 5h IR Spektrumu	71
Şekil 24. Bileşik 5h ¹ H-NMR Spektrumu	72
Şekil 25. Bileşik 5h ¹³ C-NMR Spektrumu	73
Şekil 26. Bileşik 5h HMBC Spektrumu	74
Şekil 27. Bileşik 5i IR Spektrumu	76
Şekil 28. Bileşik 5i ¹ H-NMR Spektrumu.....	77
Şekil 29. Bileşik 5j IR Spektrumu	79
Şekil 30. Bileşik 5j ¹ H-NMR Spektrumu	80

Şekil 31. Bileşik 5j ¹³ C-NMR Spektrumu	81
Şekil 32. Bileşik 5k IR Spektrumu	83
Şekil 33. Bileşik 5k ¹ H-NMR Spektrumu	84
Şekil 34. Bileşik 5k Kütle Spektrumu	85
Şekil 35. Bileşik 5l IR Spektrumu	87
Şekil 36. Bileşik 5l ¹ H-NMR Spektrumu.....	88
Şekil 37. Bileşik 5m IR Spektrumu	90
Şekil 38. Bileşik 5m ¹ H-NMR Spektrumu	91
Şekil 39. Bileşik 5n IR Spektrumu	93
Şekil 40. Bileşik 5n ¹ H-NMR Spektrumu.....	94
Şekil 41. Bileşik 5n ¹³ C-NMR Spektrumu	95
Şekil 42. Bileşik 5n Kütle Spektrumu	96
Şekil 43. Bileşik 5p IR Spektrumu	98
Şekil 44. Bileşik 5p ¹ H-NMR Spektrumu	99
Şekil 45. Bileşik 5r IR Spektrumu.....	101
Şekil 46. Bileşik 5r ¹ H-NMR Spektrumu	102
Şekil 47. Bileşik 5s IR Spektrumu.....	104
Şekil 48. Bileşik 5s ¹ H-NMR Spektrumu	105
Şekil 49. Bileşik 5t IR Spektrumu	107
Şekil 50. Bileşik 5t ¹ H-NMR Spektrumu	108
Şekil 51. Bileşik 5v IR Spektrumu	110
Şekil 52. Bileşik 5v ¹ H-NMR Spektrumu.....	111
Şekil 53. Tez kapsamında sentezlenen etodolak tiyoeterleri	113
Şekil 54. Sırasıyla 5g, 5j, 5k bileşiklerinin S-CH ₂ protonlarına ait yarılmalarda.....	118
Şekil 55. Sırasıyla 5l, 5t ve 5v bileşiği S-CH ₂ protonlarına ait yarılmalarda.....	119
Şekil 56. Bileşik 5a kütle parçalanma yolları	126
Şekil 57. Bileşik 5c kütle parçalanma yolları	127
Şekil 58. Bileşik 5e kütle parçalanma yolları	127
Şekil 59. Bileşik 5k kütle parçalanma yolları.....	128
Şekil 60. Bileşik 5n kütle parçalanma yolları.....	128
Şekil 61. Bileşik 5d indol NH etkileşimleri (yakınlaştırılmış spektrum)	130
Şekil 62. Bileşik 5h indol NH etkileşimleri (yakınlaştırılmış spektrum)	132

Şekil 63. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 1	133
Şekil 64. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 2	134
Şekil 65. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 3	134
Şekil 66. 10 µM Konsantrasyondaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin 24.saatteki farklı hücre hatlarındaki hücre büyüme yüzdeleri	135
Şekil 67. Etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin hücre büyüme görüntüleri	136
Şekil 68. 6.,12. ve 24. Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki yüzde hücre büyümeleri	136
Şekil 69. Etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin AO/EB boyaması görüntüleri	137
Şekil 70. 24.Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki AO/EB boyaması oranı	137
Şekil 71. 6.,12. ve 24. Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolak ve 5h bileşiğinin SKOV3 hücrelerindeki apoptotik kaspaz protein ekspresyonu western blot bandları.....	138
Şekil 72. Cas3/B-actin ve Clv-Cas3/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analiz	138
Şekil 73. 5h Bileşiğinin Cas8/B-actin ve Clv-Cas8/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analizi	139
Şekil 74. Cas9/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analizi.....	139
Şekil 75. 6., 12. ve 24.Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki kaspaz3 aktivitesi	140
Şekil 76. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 1.....	141
Şekil 77. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 2.....	142
Şekil 78. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 3.....	142
Şekil 79. 10 µM Konsantrasyondaki etodolak, 5k , 5s ve 5v bileşiklerinin 12., 24. ve 48. saatteki PC3 hücre hatlarındaki hücre büyüme yüzdeleri	143

Şekil 80. 12., 24. ve 48.saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki inkübe edilen etodolak, 5k , 5s ve 5v bileşiklerinin PC3 prostat kanser hücrelerindeki kaspaz3 aktivitesi	143
Şekil 81. 5v Bileşiğinin protein bağlanma bölgeleri.....	145
Şekil 82. 5k Bileşiğinin moleküler modelleme çalışması.....	146



V

ii. TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1. Tiyoeter 5a-v bileşiklerinin açık formülleri.....	114
Tablo 2. Etodolak tiyoeterlerinin 5a-v Fiziksel Bulguları.....	115
Tablo 3. 5a-v Tiyoeter bileşiklerinin IR Bulguları.....	117
Tablo 4. Etodolak tiyoeterlerinin 5a-v ¹ H-NMR Bulguları	119
Tablo 5. Triazol-tiyoeter yapısındaki 5a, 5c, 5d, 5e, 5h, 5j ve 5n 'nin ¹³ C-NMR Bulguları.....	123
Tablo 6. 5a, 5c, 5e, 5k, 5n Bileşiklerinin HR-MS Tekniğine göre Moleküler İyon Pikleri	125
Tablo 7. Over kanser SKOV3 hücrelerinde 5a-v bileşiklerinin IC ₅₀ degerleri	140
Tablo 8. Prostat kanser hücre hattı PC3 üzerinde 5a-v bileşiklerinin IC ₅₀ degerleri	144
Tablo 9. 5a-v Bileşiklerinin Modelleme Çalışması.....	146

1. ÖZET

Antikanser Etki Göstermesi Olası Etodolak Üzerinden Tiyoeater Bileşiklerinin Sentezi

Öğrencinin Adı : Işıl Çoruh
Danışmanı : Prof. Dr. Ş. Güniz Küçükgülzel
Anabilim Dalı : Farmasötik Kimya

Amaç: MetAP2 (metiyonin amino peptidaz II enzimi) antikanser tedavilerde önemli bir moleküler hedefleyici olarak kritik önem taşımaktadır. Son yıllarda 1,2,4-triazol ve tiyoeater yapısındaki MetAP2 inhibitörleri değişik tiplerdeki malignanlarda antikanser etkilere sahip olduğu bulunmuştur.

Gereç ve Yöntem: Bu bilgiler ışığında, pirano[3,4-*b*] indol ana iskeletine sahip etodolak (*R,S*) [2-(1,8-dietil-1,3,4-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)asetik asit] heterosiklik bileşiklerin sentezlenmesi için, başlangıç maddesi olarak seçilmiştir. Etodolakin metanol çözucüsünde derişik sülfürik asit katalizörlüğü ile tepkimesinden metil 2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)asetat **[1]** bileşiğı, bu bileşiğın hidrazin hidrat ile reaksiyonundan 2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)asetohidrazit **[2]** bileşiğı kazanılmıştır. Bileşik **[2]**'nin, çeşitli isotiyosiyanalara katımı sonucunda 1-[2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)asetil]-4-alkil/aril tiyosemikarbazitler **[3a-c]**, sodyum hidroksit (2N) ile siklizasyonu sonucunda 5-[(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)metil]-4-sübstitüe-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tyonlar **[4a-c]**, çeşitli benzil klorürler ile DMF/K₂CO₃ ortamında reaksiyonu sonucunda hedef bileşikler olan etodolak tiyoeaterleri **[5a-v]** sentezlenmiştir.

Bulgular: Etodolak üzerinden sentezlenen bu bileşiklerin yapıları; elementel analiz, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC ve LC-MS ile kanıtlanmış, saflıkları ise İ.T.K. ile kontrol edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında çalışılmıştır.

Sonuçlar: **5d** ve **5h** Bileşikleri sırasıyla 7.22 µM and 5.10 µM IC₅₀ değerlerinde SKOV3 hücre hatlarında, **5k**, **5s** ve **5v** bileşikleri sırasıyla 8.18 µM, 3.10 ve 4.00 µM IC₅₀ değerlerinde PC3 hücre hatlarında antikanser aktiviteye sahiptir. Bu bulguları destekler biçimde MetAP2 enzimi ile yapılan moleküler modelleme çalışması ile ΔG = -11.21 kcal/mol ve K_i = 6.10 nM değerleri ile **5k** bileşiğı, ΔG = -11.02 kcal/mol ve K_i = 8.36 nM değerleri ile **5s** bileşiğı, ΔG = -11.02 kcal/mol ve K_i = 7.27 nM değerleri ile **5v** bileşiğı en iyi MetAP2 inhibitörleri olarak bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Apoptozis, Etodolak, Tiyoeater, PC3, SKOV3, Moleküler Modelleme.

2. SUMMARY

Synthesis of Thioether Compounds Derived From Etodolac Considered As Potential Anticancer Agents

Name of the Student : Işıl Çoruh

Supervisor : Prof. Dr. Ş. Güniz Küçükgülzel

Department : Pharmaceutical Chemistry

Purpose: MetAP2 appears to play a critical role in cancer treatments as molecular targets. In recent years, 1,2,4-triazole derivatives and thioethers are reported as potential MetAP2 inhibitors several malignancies.

Materials and Methods: In the light of literature, etodolac, (*R,S*) 2-[1,8-diethyl-1,3,4-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl]acetic acid, that have the structural skeleton of pirano[3,4-*b*]indol was chosen as a starting substance to synthesize thioether compounds. Etodolac was refluxed in the presence of methanol by catalyst saturated sulfuric acid to form methyl 2-(1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl)acetate **[1]**. Methanolic solution of this compound and hydrazine hydrate were refluxed to obtain methyl 2-(1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl)acetate **[1]** and 2-(1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl)acetohydrazide **[2]**. Compound **[2]** and several isothiocyanates yield 1-[2-(1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl)acetyl]-4-alkyl/aryl thiosemicarbazides **[3a-c]**. The thiosemicarbazides react with NaOH solutions (2N) and after cyclization reaction 5-[(1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-yl)methyl]-4-substituted-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones **[4a-c]** are gained. To a suspension of 4-substituted-1,2,4-triazole-3-thione in DMF containing anhydrous K₂CO₃, substituted benzyl chlorides was added to form the target compounds 1-[[5-(substituted)sulfanyl]-4-substituted-4H-1,2,4-triazole-3-yl]methyl]-1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole **[5a-v]**.

Findings: The structures of synthesized compounds starting from etodolac drug substance, were evaluated and confirmed their structures by FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMBC, LC-MS and elemental analysis data, their impurity profiles were controlled by TLC. Anticancer activities of synthesized compounds were studied at University of Cumhuriyet Faculty of Pharmacy Biochemistry Department.

Results: Among these compounds, compounds **5d** and **5h** showed the most potent anticancer activity against SKOV3 over cell line (IC₅₀ = 7.22 µM , 5.10 µM, respectively), and compounds **5k**, **5s** and **5v** showed the most potent anticancer activity against PC3 prostate cell line (IC₅₀ = 8.18 µM , 3.10 µM, 4.00 µM, respectively). Docking simulation by positioning all thioether compounds into the MetAP2 structure active site was performed to explore the possible binding model. The results of docking demonstrated that compounds **5k**, **5s** and **5v** possessed best inhibitors.

Keywords: Apoptosis, Etodolac, Thioether, PC3, SKOV3, Molecular Docking

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser hastalığı, bireylerin yaşamlarında ciddi ve yoğun bir sağlık sorununun yaşandığı dönemdir. Geleneksel olarak kanser tanısı, acı ve ölüm ile özdeşleştirilmektedir (Courstens ve ark., 1996). Dünyada her yıl 12,7 milyon kişiye kanser teşhisi konulmaktadır. Yaklaşık 7,6 milyon kişi kansere yakalanmaktadır. Yapılan tedaviler yetersiz kalmakta ve ölümle sonuçlanmaktadır. Tahminler dünya genelinde kanser vakalarının artarak 2030 yılında 26 milyon yeni kanser yüküne ulaşacağı yönündedir. Bununla birlikte, Türkiye'deki kanser araştırma istatistiklerine göre her yıl 150.000 yeni kanser teşhisi konulmaktadır. Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de kanser araştırmaları ve kanser tedavisinde etkili ürünlerin geliştirilmesinin önemi her geçen gün artmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki; COX-2 antikanser terapilerde önemli bir moleküler hedefleyicidir ve COX-2 inhibitörleri değişik tiplerdeki malignanlarda antikanser etkilere sahiptir.

Etodolak pirano[3,4-*b*]indol yapısı içeren seçici COX-2 inhibitörü bir non-steroidal anti-inflamatuvar etkili (NSAID) etken maddedir.

Okamoto ve ark. (Okamoto ve ark. 2008) etodolak etken maddesinin önemli antitümör etki gösterdiğini, *in vivo* ve *in vitro* olarak insan prostat ve mesane kanseri hücrelerinde, hücre apoptozisini indüklediğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte COX-2 inhibitörü olan etodolak üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda Kobayashi ve ark. (Kobayashi ve ark. 2005) Burkitt's lenfomasında antitümör etkinliği olduğunu ve normal B-lenfositlerinde apoptozisi indüklemediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Murata ve ark. (Murata ve ark. 2011) 5-fluorourasil'in (5-FU) baş ve boyun yassı hücreli karsinomanın tedavisinde sıklıkla kullanılması ile ilgili olarak yapılan araştırmalarda, etodolak etken maddesinin 5-FU'e dirençli hücrelerde 5-FU'in sensitizasyonuna yol açan timidilat sentaz ekspresyonu üzerine inhibitör etkinliğini kanıtlanmışlardır. Aynı zamanda selektif COX-2 inhibitörü olan etodolak; *Helicobacter pylori* ile enfekte olmuş mide karsinogenezisinde ve çeşitli karsinomalarda etkili olduğu literatürlerde bildirilmektedir (Magari ve ark. 2005;

Mishima ve ark. 2005). Çıkla ve ark.'nın (Çıkla ve ark. 2013) yaptıkları çalışmalarda, etodolak etken maddesi üzerinden yürüyen bileşiğin antikanser etkide olduğunu, apoptoz yolağındaki kaspaz-3 ve Bcl-3 aktivitesi üzerine araştırmalar yapıldığı bildirilmektedir.

Heterosiklik bileşiklerin eldesinde sentez ara maddeleri olan tiyosemikarbazit yapısındaki bileşikler aktiviteye sahip yapılardır. Hidrazitlerin isotiyosiyanat bileşikleri ile etanollü ortamda geri çeviren soğutucu altında su banyosunda 2–3 saat ısıtılması neticesinde tiyosemikarbazitler elde edilmektedir (Rollas, 1983). Ghorab ve Al-Said adlı araştırmacılar sentezledikleri bileşikler üzerinde Ehrlich Ascities Carcinoma (EAC) hücre hattı için *in vitro* antitümör aktivite değerlendirmelerinde kayda değer sitotoksik aktiviteye rastlamışlardır (Ghorab ve Al-Said, 2011).

Fenetil isotiyosiyanat gibi bazı isotiyosiyanatların antikanser aktiviteleri ve kanseri önlemedeki etkinliklerinin bildirilmesi (Stansfield ve ark., 2007) son zamanlarda bu isotiyosiyanatlar üzerinden sentezlenen tiyosemikarbazitlerin önemini arttırmıştır.

Tiyosemikarbazitlerin alkali ortamda ısıtılmasından 1,2,4-triazoller kazanılmaktadır. (Küçükgül ve ark., 2001; Küçükgül ve ark., 2004; Küçükgül ve ark., 2007). 1,2,4-Triazol yapısındaki bileşiklerin pek çok biyolojik etkinliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Küçükgül ve Süzgün, 2015).

Çıkla, etodolak türevleri üzerine yaptığı çalışmalarda 5-[(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)metil]-4-benzil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyon bileşiğinin NCI testinde 10^{-5} M konsantrasyonda etkin olduğunu ve PC-3 hücrelerine karşı doza bağımlı olarak doku kanserleşmesinin yeni mekanizması olarak adı geçen apoptozun bir yolağı olan kaspaz-3 aktivasyon çalışmasını gerçekleştirmişlerdir (Çıkla-Süzgün ve ark., 2015).

Triazollerin etanollü sodyum hidroksitli ortamda benzil klorürler ile ısıtılması neticesinde tiyoeter bileşikleri elde edilmektedir (Küçükgül ve ark., 2004). Hou ve

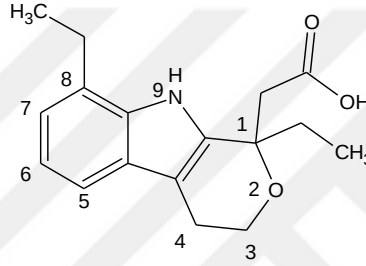
ark. (Hou ve ark., 2011) 1,4-benzodioksan artığı içeren 1,2,4-triazol tiyoeterleri sentezleyerek antitümör etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında, 3-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-5-(2-fluorobenziltiyo)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol bileşiğinin HEPG2 hücrelerine IC_{50} 0.81 μ M ve MetAP2'ye IC_{50} 0.93 μ M değerlerinde inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Du ve ark. (Du ve ark., 2013) 1,3,4-oksadiazol tiyoeter türevlerinin timidilat sentaz hedeflendirici etkisinin antikanser özelliğe sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Son dönemlerde triazol ve tiyoeter bileşiklerinin antikanser etkilerinin büyük önem kazanmış olması dikkatimizin bu yönde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Etodolak etken maddesinin ürogenital sistemlerde gelişen kanserlerde antitümör etkisinin bildirilmesi (Okamoto ve ark., 2008, Shigemura ve ark., 2005) araştırmacıları etodolak üzerinden sözü geçen bu yapıların sentezlenmesi ve aktivitelerinin incelenmesi üzerinde çalışmaya yöneltmiştir. Belirli kanserli hücrelerinde antitümör özelliği literatürde bildirilmiş olan etodolak etken maddesi üzerinden MetAP2 enzimine yönelik tiyoeter fonksiyonel grubunu içeren bileşiklerin sentezlenmesi ve antikanser etkiye sahip olabileceğinin araştırılması planlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Etodolak Hakkında Genel Bilgiler

Non-steroidal anti-inflamatuvar etkili (NSAID) ilaçlar, hücrelerde araşidonik asitin prostaglandinlere dönüşümünü katalize eden siklooksijenaz enzimini inhibe ederler. Siklooksijenazların COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki farklı izoformu bulunmaktadır Etodolak, seçici COX-2 inhibitörü olan bir non-steroidal anti-inflamatuvar etkili (NSAID), pirano[3,4-*b*]indol yapısı içeren bir etken maddedir (Puglisi ve ark., 2009).



2-(1,8-Diethyl-1,3,4,9-tetrahydropirano[3,4-*b*]indol-1-yl)asetik asit (**ETODOLAK**)

4.1.1 Etodolak ve Etodolak Türevlerinin Antikanser Etkinlikteki Yeri

Pirano[3,4-*b*]indol yapısı içeren karboksilli asit türevi olan 1985'den beri seçici COX-2 inhibitörü etodolak, analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri olan streoit yapısında olmayan bir etken maddedir. İndol yapısı, yeni ilaç artıklarının geliştirilmesinde özellikle antikanser etkinlik göstermesi açısından önemlidir. İndol temelli farmakoforlar, indol türevlerinin antikanser ajanlara kayda değer şekilde cevap vermesi dolayısıyla yapısal modifikasyonlarda araştırmacılar arasında en çok tercih edilen yapılar olmaktadır. Sentez başlangıç maddesi olarak etodolak etken maddesini seçilmesindeki başlıca neden gösterdiği antikanser etkinliktir.

Etodolak etken maddesi B-hücre prekürsör akut lenfoblastik lösemi tedavisinde lösemik lenfositin yaşama olasılığını ve proliferasyonunu azaltma üzerine (Thiago ve

ark., 2009) ve kemik iliği stromal hücre adhezyonuna (Nakamura ve ark., 2006) bağlı olarak antitümör etkinliğe sahiptir.

Gopalsamy ve ark. (Gopalsamy ve ark., 2004) çalışmalarında pirano[3,4-*b*]indol ana iskeletini içeren bileşiklerin hepatit-C (HCV) NS5B polimeraz inhibitörü etkinliğine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. NS5B RNA bağımlı bir polimerazdır, HCV viral replikasyonunda merkez enzimdir ve HCV'ye karşı antiviral ajanların geliştirilmesi için potansiyel bir hedef sunmaktadır.

Çıkla ve ark. (Çıkla ve ark., 2013) pirano[3,4-*b*]indol ana iskeletini içeren COX-2 enzim inhibitörü olan etodolak üzerinden tiyosemikarbazit türevlerini sentezleyerek, metil, bütıl ve allıl sübstütüenti içeren bileşiklerinin sırasıyla 18.7 μ M, 29.2 μ M ve 16.8 μ M IC₅₀ değerlerinde Hepatit C NS5B RNA bağımlı RNA polimeraz enzim inhibisyonuna sahip en aktif bileşikler olduğunu bulmaktadırlar ve ilk kez tiyosemikarbazit yapısındaki bileşiklerin hepatit C etkinliği dünyaya bu literatür ile duyurulmaktadır. Ayrıca, 16.8 μ M konsantrasyonda IC₅₀ değerine sahip olan 1-[2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol-1-il)asetil]-4-alliltiyosemi karbazit üzerinde yapılan modelleme çalışması HCV NS5B polimerazın TP-II bölgesinin etodolak tiyosemikarbazitleri için potensiyel enzim bağlanma bölgesi olduğunu göstermiştir.

Okamoto ve ark. (Okamoto ve ark., 2008) etodolak etken maddesinin insan mesane kanseri (T24) hücre hattında 10⁻⁴ M konsantrasyonda hücre büyümesini inhibe ettiğini, antitümör etki gösterdiğini ve *in vivo* ve *in vitro* olarak insan prostat ve mesane kanseri hücrelerinde hücre apoptozisini indüklediğini bildirmektedirler.

Shigemura ve ark. (Shigemura ve ark., 2005) benzer şekilde etodolak etken maddesi ile yaptıkları aktivite çalışmalarında; etodolak etken maddesinin *in vitro* ve *in vivo* prostat kanser hücre hatlarına karşı antitumor etkiye sahip olduğunu tespit etmektedirler.

Bununla birlikte COX-2 inhibitörü olan etodolak üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda Kobayashi ve ark. (Kobayashi ve ark., 2005) Burkitt's lenfomasında antitümör etkinliğin, Bcl-2 düzenleyici yolağı ile apoptozisi indüklemesinden kaynaklandığını ve etodolakın indüklediği apoptozis yolağının; anti-apoptotik Bcl-2 mRNA ve Bcl-2 protein redüksiyonu, kaspaz 3- ve kaspaz 9- aktivasyonu, kaspaz inhibitörlerinin reseptörlerinin azalması ve c-IAP-1 ile ilgili olduğunu ortaya koymaktadırlar.

Benzer şekilde, Murata ve ark. (Murata ve ark., 2011) 5-fluorourasil'in (5-FU) baş ve boyun yassı hücreli karsinomanın tedavisinde sıklıkla kullanılması ile ilgili olarak yapılan araştırmalarda, etodolak etkin maddesinin 5-FU'e dirençli hücrelerde 5-FU'in sensitizasyonuna yol açan timidilat sentaz ekspresyonu üzerine inhibitör etkinliğini kanıtlamaktadırlar.

Aynı zamanda selektif COX-2 inhibitörü olan etodolak; *H. pylori* ile enfekte olmuş mide karsinogenezisinde ve çeşitli karsinomalarda etkili olduğu literatürde bildirilmektedir (Magari ve ark., 2005)

Mishima ve ark. (Mishima ve ark., 2005), etodolak tedavisi sırasında COX-2 inhibisyonunun yalnız başına insan dilinde farklılaşmış skuamoz kanser hücre dizisi olan SCC-25'in apoptozisini başlatmadığını, antikanser bir etken madde olan karboplatin ile kombine kullanımı sonucunda, hem protein hem RNA seviyelerinde antiapoptotik tirozin fosfotaz enzimi olan FAP-1'in ekspresyonunun baskılanmasını artırdığını tespit etmektedirler. Böylece, bu çalışma antikanser bir etken madde ile COX-2 inhibitörünün kombine kullanımının kanser tedavisi için klinik açıdan yararlı olabileceğini göstermektedir.

Çıkla ve ark. (Çıkla ve ark., 2013) yaptıkları çalışmalarda, etodolak etken maddesi üzerinden yürüyen 2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)asetik asit[(4-klorofenil)metilen]hidrazit bileşiğinin prostat kanser hücre hattında (PC-3) 10^{-5} M konsantrasyonda % 58.24 değerinde büyüme inhibisyonuna sahip olduğunu, MTT kolorimetik yöntemle yapılan *in vitro* çalışmalarda ise 54 μ M IC₅₀

değerinde antikanser etki gösterdiğini ve bu bileşik ile apoptozis yolağındaki kaspaz-3 ve Bcl-3 aktivitesi üzerine araştırmalar yapıldığını bildirmektedirler.

Çıkla ve ark. (Çıkla ve ark., 2015) etodolak türevleri üzerine bir sonraki yaptığı çalışmalarda 5-[(1,8-Dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)metil]-4-benzil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyon bileşiğinin NCI testinde 10^{-5} M konsantrasyonda etkin olduğunu ve PC-3 hücrelerine karşı doza bağımlı olarak doku kanserleşmesinin yeni mekanizması olarak adı geçen apoptozun bir yolağı olan kaspaz-3 aktivasyon çalışmasını gerçekleştirmişlerdir.

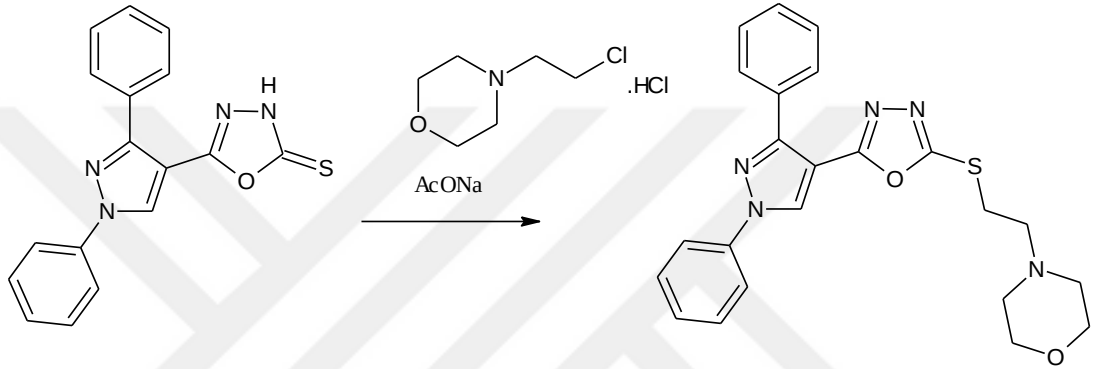
4.1.2 Tiyoeter Bileşiklerinin Biyolojik Etkileri ve Antikanser Etkinlikteki Yeri

Heterosiklik bileşiklerin eldesinde sentez ara maddeleri olan tiyosemikarbazit yapısındaki türevler yüksek aktiviteye sahip yapılardır (Küçükgül ve Coşkun, 2016). Hidrazitlerin isotiyosiyanat bileşikleri ile etanollü ortamda geri çeviren soğutucu altında su banyosunda 2-3 saat ısıtılması neticesinde tiyosemikarbazitler elde edilmektedir. Tiyosemikarbazitlerin alkali ortamda ısıtılmasından kazanılan 1,2,4-triazoller çeşitli biyolojik etkiye sahiptir. Özellikle, 1,2,4-triazol (Küçükgül ve Süzgün, 2015) ve tiyoeter bileşiklerinin de antikanser etkinliğinin bildirilmesi biz araştırmacıları tiyoeter bileşiklerinin sentezine yönlendirmektedir.

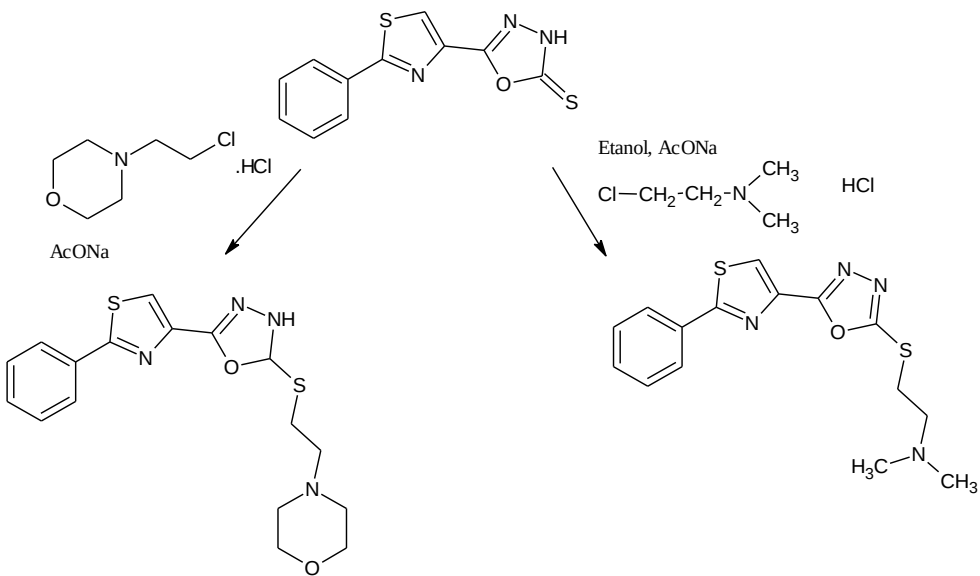
Triazollerin sodyum hidroksitli ortamda etanol içerisinde benzil klorürler ile ısıtılması neticesinde tiyoeter bileşikleri elde edilmektedir (Küçükgül ve ark., 2004; Zamani ve ark., 2004). Triazol tiyoeter türevlerinin eldesinde bu yöntemin haricinde literatürde kayıtlı birçok sentez yöntemi mevcuttur. Tiyoeterler; monokloroasetik asit ile sulu sodyum hidroksit çözeltisi (Kothari ve ark., 1980), alkil halojenürler ile sodyum hidroksit çözeltisi (Ram ve Vlietinck, 1988; Ram ve ark., 1989; Bera ve ark., 2013), H_2O – aseton (2:1) ortamında ve potasyum hidroksit (Shao ve ark., 2014), etanol ortamında ve potasyum hidroksit (Mohammadhosseini ve ark., 2009; Tu ve ark., 2013), susuz asetonitril ortamında ve sodyum hidroksit (Zhang ve ark., 2013), N,N-dimetilformamid (DMF) ortamında $CaCl_2$ (Klimesova ve ark., 2004), benzen ortamında susuz K_2CO_3 (Patel ve Park, 2014), DMF ortamında

mikrodalga yöntemini (Sun ve ark., 2014), etanol ortamında potasyum karbonat (Li ve ark., 2013), DMF ortamında susuz K_2CO_3 (Panathur ve ark., 2013; Rostom ve ark., 2009; Basile ve ark., 2012) kullanarak elde edildiği bildirilmiştir.

Farghaly ve El-Kashef, tiyon fonksiyonel grubunu biyoaktif alkillemeye ajanı olan 4-(2-kloroetil)morfolin hidroklorür ile kaynar etanol ortamında sodyum asetat varlığında alkillyerek 4-{2-[5-(1,3difenil-1H-pirazol-4-il)-[1,3,4]oksadiazol-2-il]etil}morfolin yapısını elde etmektedirler (Farghaly ve El-Kashef, 2006).



Thore ve ark. ise 1,3,4-oksadiazol-2-tiyon yapısı içeren bileşiklerden iki yolla tiyoeter türevi bileşikleri sentezlemektedirler. 1,3,4-Oksadiazol-2-tiyon yapısına sahip bileşiklerin alkillenmesi birbirinden bağımsız olarak iki farklı alkillemeye ajanı olan 4-(kloroetil)morfolinil hidroklorür ve 2-dimetilaminoetil klorür hidroklorür kaynar etanolde ve sodyum asetat varlığında yapılmaktadır (Thore ve ark., 2013).



Araştırmacılar tiyoeter bileşiklerinin sentezleyerek aktivite çalışmalarına ait bulguları literatüre de ayrıca kazandırmışlardır.

Du ve ark. (Du ve ark., 2013) 1,3,4-oksadiazol tiyoeter türevlerinin timidilat sentaz hedeflendirici etkisinin antikanser özelliğe sahip olduğunu belirtmektedirler.

Zhang ve ark. 1,2,4-triazol-tiyoeter bileşiklerini sentezledikleri çalışmalarında 4-[5-(3-bromo-benzilsulfanil)-4-fenil-4H-[1,2,4]triazol-3-il]-piridin'in üç farklı hücre hattının (MCF7, HCT116, HepG2) büyümesini sırasıyla 10.04, 8.17, 7.04 μM IC_{50} değerlerinde inhibe ettiğini bildirmektedirler. Ayrıca, bileşiğin *non-receptor protein tyrosine kinase focal adhesion kinase* (FAK) ile moleküler modelleme çalışmasında 14.64 μM IC_{50} değerlerinde inhibisyona sahip olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2013)

Hou ve ark. (Hou ve ark., 2011) 1,4-benzodioksan artığı içeren 1,2,4-triazol türevlerini sentezleyerek antitümör etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında, 3-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-5-(2-fluorobenziltiyo)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol bileşiğinin HEPG2 hücrelerine IC_{50} 0.81 μM ve MetAP2'ye IC_{50} 0.93 μM değerlerinde inhibitör aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Zhao ve ark. (Zhao ve ark., 2012) ise sentezledikleri bir seri 1,2,4-triazol bileşiğinin antitümör etkinliğini inceleyerek, 2-[3-(2-okso-2-p-toliletiltiyo)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-4H-1,2,4-triazol-4-il]isoindolin-1,3-dion bileşiğinin 5-Fluorourasil'e kıyasla A549 ve HEPG3 hücre proliferasyonunu sırasıyla $\text{IC}_{50} = 6.76 \text{ mM}$ ve $\text{IC}_{50} = 9.44 \text{ mM}$ değerleriyle 4 kat kadar gelişmiş olarak inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Klimesova ve ark. 1,2,4-triazol-tiyoeter bileşiklerini sentezledikleri çalışmalarını literatüre kazandırmışlardır. Sentez bileşiklerinin *in vitro* antimikobakteriyal aktiviteleri *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* ve *Mycobacterium kansasii*'nin iki suşuna karşı test edilmiş ve değerlendirilmiştir (Klimesova ve ark., 2004).

Mohammadhosseini ve ark. 2-[(süstitübenzil)tiyo]-5-(5-nitro-2-furil)-1,3,4-tiyadiazol bileşiklerini elde etmektedirler. Sentezlenen bileşiklerin *in vitro* anti-*H. pylori* aktiviteleri disk diffüzyon metodu ile değerlendirilmiş ve en etkili bileşiğin 2-[(2-kloro-6-fluorobenzil)tiyo]-5-(5-nitro-2-furil)-1,3,4-tiyadiazol olduğu bildirilmiştir (Mohammadhosseini ve ark., 2009).

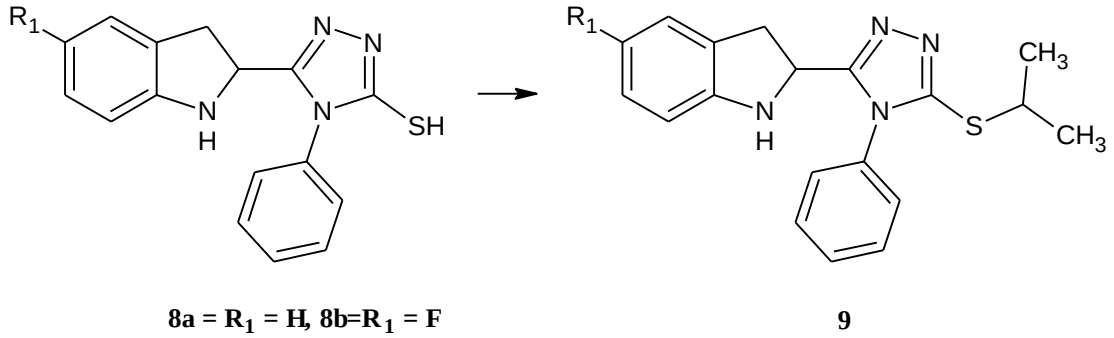
Murty ve ark. tarafından sentezlenen bileşikler için 5 farklı insan hücre hattında sitotoksikite çalışmaları yapılmıştır. 5-(3-Klorofenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il 3-[4-(2-primidinil)piperazino]propil sulfat ve 5-(3-Metilfenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il 3-[4-(2-piridil)piperazino]propil sulfat bileşiklerinin U937 (insan lösemik monosit lenfoma hücre dizisi) ve HL-60 (insan miyeloid lösemi hücre dizisi)'ye karşı en potent bileşikler olduğunu tespit etmişlerdir (Murty ve ark., 2014).

Patel ve Park sentezledikleri bileşiklerin çeşitli bakteri suşlarına (*Staphylococcus aureus* MTCC 96, *Bacillus cereus* MTCC 619, *Escherichia coli* MTCC 739, *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 741, *Klebsiella pneumoniae* MTCC 109) ve funguslara (*Aspergillus niger* MTCC 282, *Candida albicans* MTCC 183) karşı antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirilmiştir (Patel ve Park, 2014).

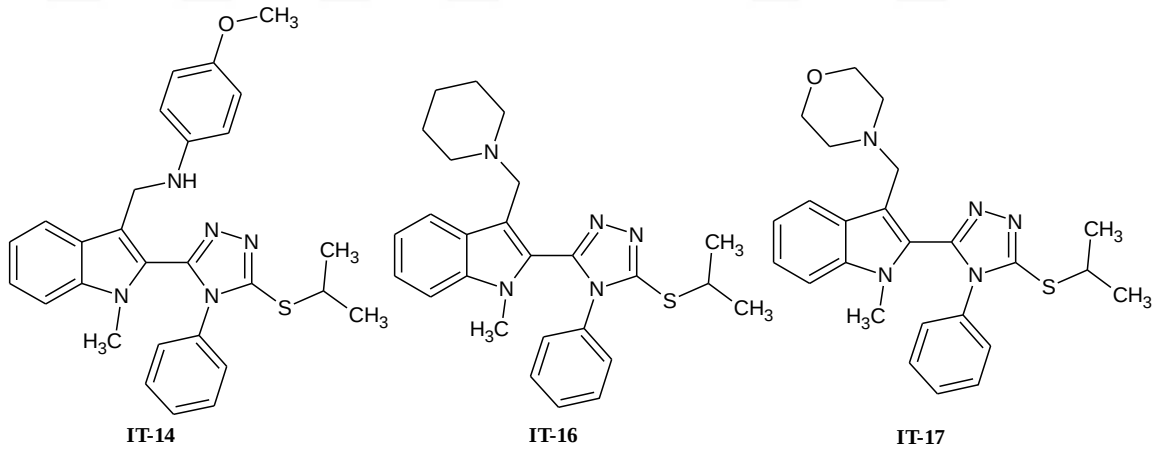
Tu ve ark. çalışmalarında elde ettikleri tiyoeter türevi sentez bileşikleri için K562 (insan eritromiyeloblastoid lösemik hücre dizisi), MDAMB-231 (insan göğüs adenokarsinom hücre dizisi), HT29 (insan kolon adenokarsinom seviye II hücre dizisi), HepG2 (insan hepatosellüler karaciğer karsinom hücre hattı)'ye karşı *in vitro* antiproliferatif aktivite çalışmaları yapmışlar, (S)-N-[1-(5-(3-klorobenziltiyo)-1,3,4-oksadiazol-2-il)-3-metilbütill]-4-klorobenzamit bileşiğinin %85 inhibisyon ile K562 hücre dizisine karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Tu ve ark., 2013).

Panathur ve ark. (Panathur ve ark., 2013) Lipinski kuralı yaklaşımını temel alarak 1,2,4-triazol-3-tiyoeter birimine indol yapısını bağlayarak hedef bileşikler sentezlemişler ve insan kronik miyeloid lösemi (K562), insan metastatik göğüs

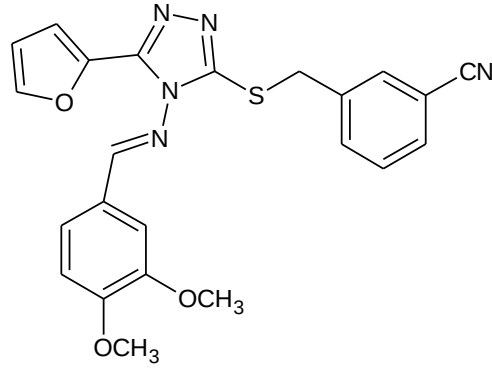
kanseri (MDA-MB 231) ve insan prostat kanser (LNCaP) hücre hatlarında MTT miktar tayini metodunu kullanarak bileşiklerin sitotoksitesini test etmişlerdir.



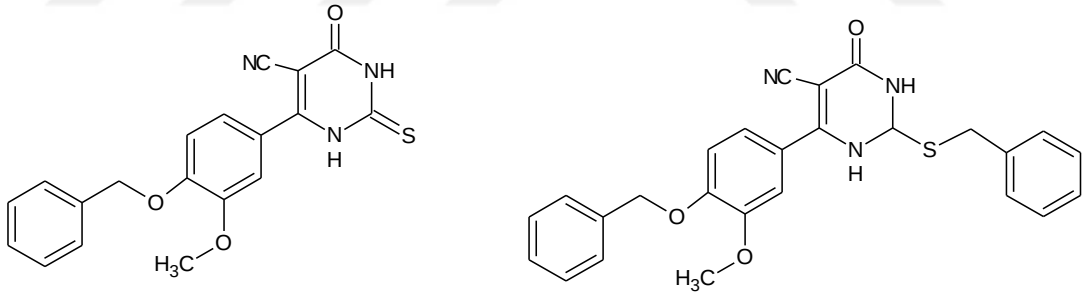
Aynı çalışmada, 4-metilpiperidin (IT-16) ve morfolin (IT-17) yapısı taşıyan moleküllerin en potent bileşikler olduğunu, K562 hücre hattına karşı % 88 oranında hücre büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. NAD⁺ bağımlı sınıf III deasetilaz enzimleri olarak bilinen Sirtuin (SIRT) ailesi genlerinden en çok çalışılan enzim apoptoz mekanizmasında yer aldığı için SIRT1'dir. Araştırmacılar ayrıca IT-14 bileşiğinin SIRT1 enzimini inhibe ederek prostat hiperplazisini önlediğini tespit etmişlerdir (Panathur ve ark., 2013)



Li ve ark. NSAİİ olarak HIV-1 tedavisi kapsamında FDA tarafından onaylanan nevirapin, delavirdin, efavirenz, etravirin ve rilpivirin etken maddelerine benzer olarak triazol temelli HIV-1 inhibitörü ilaç adaylarını sentezledikleri çalışmalarında 3-{[4-(3,4-dimetoksibenzilidenamino)-5-(furan-2-il)-4H-1,2,4-triazol-3-il-tiyo]metil} benzonitril bileşiğinin en yüksek HIV-1 aktivitesine (EC₅₀=17.4 µM, SI=13) sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Li ve ark., 2013).



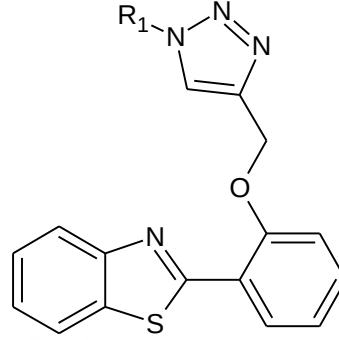
Rostom ve ark. (Rostom ve ark., 2009) 6-(4-benziloksi-3-metoksifenil)-4-okso-2-tiyooksa-1,2,3,4-tetrahidropirimidin-5-karbonitril yapısını ara ürün olarak aldıkları çalışmalarında, S-alkiltürevini elde etmişler, S-alkiltürevinin de olduğu bir seri analogda *in vitro* MTT standartı ile beyaz ırk göğüs adenokarsinom (MCF7), hepatosellüler karsinom (HepG2) ve kolon karsinom (HT29) hücre hatlarında sitotoksik miktar tayini analizi yapmışlardır. Bu bileşiklerin HepG2 hücre hattında LC₅₀ seviyelerindeki sonuçlara göre sırasıyla 16.9 µg/mL ve 14.3 µg/mL konsantrasyonda sitotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.



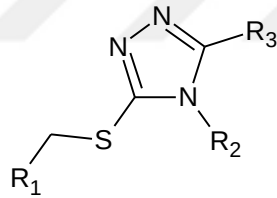
Küçükgül ve ark. (Küçükgül ve ark., 2004) 3-([(süstitüefenil)metil]tiyo)-4-alkil/aril-5-(4-aminofenil)-4H-1,2,4-triazol türevlerinin antikonvülsan etkilerini maksimum elektroşok (MES), subkutan pentilentetrazol (scPTZ) ve nerotoksiste (NT) görüntüleme yöntemleriyle değerlendirmişlerdir.

İndol yapısının yanısıra benzotiyazol halkasının ana iskeleti oluşturduğu triazol ve izoksazol türevleri üzerine Kumbhare ve ark.'nın (Kumbhare ve ark., 2012) çalışmalarına bakıldığında, sentezledikleri benzotiyazol bileşiklerinin göğüs karsinom (MCF-7), kolon kanser (Colo-205) ve insan akciğer adenokarsinom (A559)

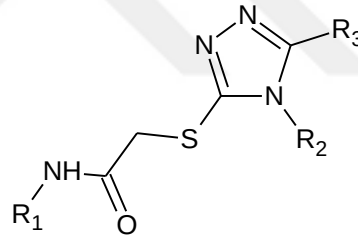
hücre hatlarında IC₅₀ değerlerinde sırasıyla 26 – 43 µM, 11 – 21 µM ve 11 – 24 µM konsantrasyon aralığında antikanser aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişler, MCF-7, Colo-205, A559 hücre hatlarında MTT miktar tayini ile sitotoksik aktivitelerini değerlendirmişlerdir.



Son yıllarda 3,4,5-trisüstitüe-1,2,4-4H-triazol bileşiklerinin güçlü non-nükleozid HIV-1 ters transkriptaz enzim inhibitörleri olarak tanımlanmaktadır. Cichero ve ark. (Cichero ve ark., 2011) sentezledikleri iki seri triazol bileşiklerinden, Seri-1 bileşiklerini WT (wild-type) HIV-1'e karşı MT-2 hücrelerinde ve HeLa-JC53 hücrelerinde test etmişlerdir.

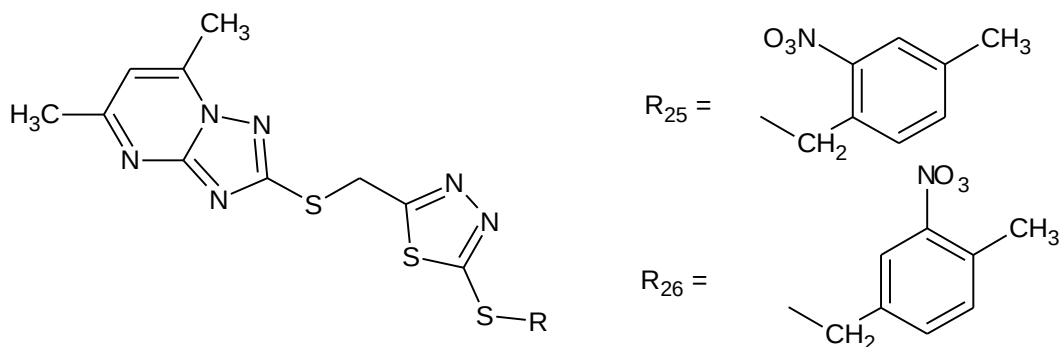


Seri-1

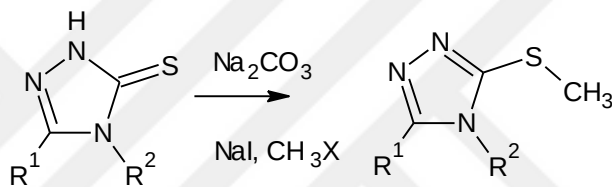


Seri-2

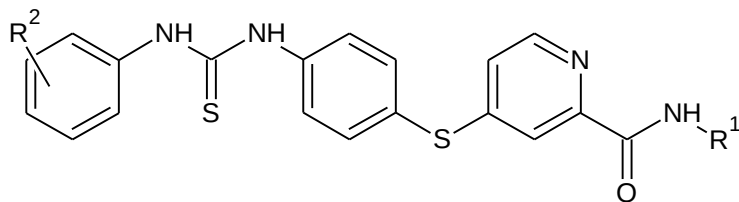
Luo ve ark.'ınca (Luo ve ark., 2013) yapılan sentezlerin neticesinde 2-((5,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-2-il-tiyo)metil)-5-(4-metil-2-nitrobenziltiyo)-1,3,4-tiyadiyazol bileşiğinin *Pseudomonas fluorescance*'e karşı 1.56 µg/mL konsantrasyondaki MIC değeri ile en iyi antibakteriyel aktiviteye, 2-((5,7-dimetil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-2-iltiyo)metil)-5-(4-metil-3-nitrobenziltiyo)-1,3,4-tiyadiyazol bileşiğinin ise *Rhizoctonia soloni*'ye karşı %89±2 inhibisyon oranıyla en yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmişlerdir.



Grandi ve ark. triazol-tiyoeter yapısını *FRET temelli HTS* analizine göre HIV ters transkriptaz ribonükleaz inhibitörü olarak tanımlamışlardır (Grandi ve ark., 2010).



Yao ve ark. serefenib türevi diaril tiyoüre ve tiyoeter yapısında bir seri bileşiği sentezledikleri çalışmalarında, 4-(4-(3-süstitütetiyoüreit)feniltiyo)N-metilpikolinamid bileşiklerinin kolon kolorektal karsinom (HCT116) ve göğüs kanser (MDA-MB-231) hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivite bakımından serefenibe göre yarışmacı bir etkinlik gözlemişlerdir (Yao ve ark., 2013).

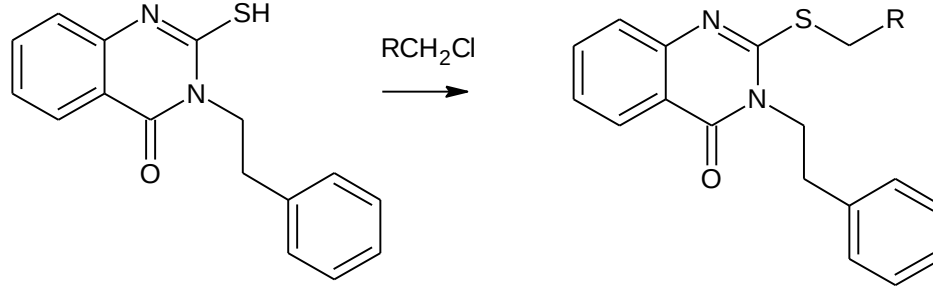


9p: R¹=-CH₃; R²=3,5-CF₃

9r: R¹=-CH₂CH₃; R²=3-CF₃,4-Cl

9s: R¹=-cyclopropyl; R²=3-CF₃, 4-Cl

Alanazi ve ark.'nın yaptıkları çalışmaya göre bir seri 2-(süstitüetiyo)-3-fenetilkinazolin-4(3H)-on ve 2-([5-merkapt-4-(süstitüte)-4H-1,2,4-triazol-3-il)metiltiyo]-3-fenetilkinazolin-4(3H)-on bileşikleri tasarlayarak sentezlemişler ve *in vitro* antitümör aktiviteleri değerlendirmişlerdir (Alanazi ve ark., 2013).



Bu bileşiklerden 2-(metiltiyo)-3-fenetilkinazolin-4(3H)-on'un kolon kanseri hücre hatları (HCT-116 ve HCT-15), melanoma kanser hücre hatları (MDA-MB-435), renal kanser hücre hatları (AHCN, RXF 393, ve UO-31), prostat kanser hücre hattı (PC-3) ve göğüs kanseri hücre hatlarında (MCF7, MDA-MB-231/ATCC, T-47D, ve MDA-MB-468) duyarlı seçici aktivite gösterdiğini, 3-fenetil-2-[2-(piperidin-1-il)etiltiyo]kinazolin-4(3H) bileşiğinin ise, küçük olmayan akciğer kanseri hücre hattı (EKVX), kolon kanseri hücre hattı (HT29), renal kanser hücre hattı (UO-31) ve göğüs kanseri hücre hatlarında (MCF7, MDAMB-231/ATCC, and T-47D) orta dereceli duyarlılık gösterdiğini rapor etmişlerdir.

4.1.3 Metiyonin Aminopeptidaz Enzimi Hakkında Genel Bilgiler

Escherichia Coli, *Bacillus subtilis* ve *Salmonella typhimurium* gibi prokaryotlarda sadece Metiyonin aminopeptidaz (MetAP) geni olarak Metiyonin aminopeptidaz-1 (MetAP1), *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Sulfolobus solfataricus* ve *Pyrococcus furiosus* de ise Metiyonin aminopeptidaz-2 (MetAP2) tespit edilmiştir. Ökaryotlarda ise, birden fazla gen bu enzim ailesini kodlamaktadır. Hem maya ve hem de insanlarda , MetAP1 ve MetAP2 olarak bilinen iki proteinin MetAP aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir. MetAP1'in aksine MetAP2, molekül C-terminal yarı bir yüzey döngü içinde eklenen uzunluğu yaklaşık 60 kalıntıların bir alfa sarmal bir etki alanına sahiptir. Ökaryotik MetAP'lar, kendi prokaryotik benzerlerinden ek bir N-terminal uzantısı ile ayırt edilirler. Ökaryotik MetAP1'de 12-kDa bölgesinde iki olası çinko parmak motifleri vardır ve ökaryotik MetAP2'de ise, poliasidik ve polibazik benzer büyüklükteki segmentler halinde uzanan son derece yüklü N-terminal bulunur. Bu N-terminal uzantıları, hücre içi yapılar veya ribozom gibi organelleri ile ökaryotik MetAP izoenzimlerinin toplandığı yerlere karışmış durumda bulunurlar (Arfin ve ark, 1995; Lowther ve Matthews, 2000; Zuo ve ark, 1995; Chang ve ark, 1992).

Diğer aminopeptidazlara kıyasla MetAP'lar Co^{+2} ye bağımlı sitoplazmik enzimler olarak kabul edilir ve diğer aminopeptidazlar ile karşılaştırıldıklarında dar substrat özgüllükleri sergilerler. Spektroskopik ve kinetik analizler, bazı MetAP'ların tam aktiviteye sahip olması için iki farklı metal iyonuna gereksinim duyduğunu göstermektedir. Diğer durumlarda, tek bir metal iyonu enzimatik aktivite için gerekli iken ikinci bir metal iyon enzimatik aktivitesinin artmasına veya azalmasına yarar sağlar. Örneğin, Zn^{2+} mayalarda MetAP1 aktivitesi için Co^{2+} 'ya göre indirgenmiş glutatyonun fizyolojik konsantrasyonunun varlığında daha iyi bir kofaktör olarak tanımlanmıştır. Başka bir çalışma, *Escherichia Coli* için fizyolojik olarak tercih edilen metal iyonunun Fe^{2+} olduğunu göstermiştir. İnsan MetAP2 için farklı metal kompleksleri üzerinde yapılan başka araştırmalarda ise MetAP2'nin fizyolojik metal iyonu olarak Mn^{2+} kullanılması ve terapötik MetAP2 inhibitörlerinin MetAP2- Mn^{2+} 'i

inhibe etmesi gerektiği bildirilmiştir (Walker ve Bradshaw, 1998; D'souza ve Holz, 1999; Wang ve ark, 2003)

MetAP'lerin aktiviteleri özellikle hücre büyümesi ve hücre yaşayabilirliği üzerine önemlidir. Kanser ile ilişkisine geldiğimizde ise değişik türdeki kanserlerin büyümesinde önemli bir rolü olduğu görülmektedir. MetAP2, endotel hücre proliferasyonunu ve anjiogenezi inhibe eden enzimlerin başında gelmektedir. İnsan MetAP2'nin anti-sense oligonükleotidlerle tanımlanması, endotelik hücre çoğalmasını inhibe eder (Datta ve ark, 2003). MetAP2'nin anti-sense'i ayrıca sıçan hepatoma hücrelerinde apoptozu indükler (Datta ve Datta, 1999). Başka bir çalışmada fumagillin'in etkili bir şekilde karaciğer tümör büyümesini ve metastazını sıçanlarda *in vivo* inhibe ettiğini göstermektedir (Sheen ve ark, 2005).

Garrabrant ve ark. triazol artığı taşıyan belirli türevlerle yaptıkları aktivite çalışmalarında MetAP-2 enziminin 8 nM IC₅₀ değerinde geri dönüşümlü olarak inhibisyon gösterdiğini kanıtlamışlardır (Garrabrant ve ark., 2004).

Selvakumar ve ark. yeni MetAP-2 inhibitörlerini tanımladıkları çalışmalarında 2-{3-[3,5-bis[4-nitrobenziliden]-4-okso-piperidin-1-il]-3-okso-propilsulfanil} etan sulfonik asit bileşiğinin MetAP-2 inhibitörü olmasının yanında HT29 insan kolon kanser hücre hatları üzerinde 1.2 µM IC₅₀ değerinde etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Selvakumar ve ark., 2009).

Sonuç olarak; Malign mesotelioma hücreler normal mesotelioma hücrelerine göre yüksek MetAP2 mRNA seviyesi içerirler. MetAP2 mesotelioma hücrelerinde hücre çoğalmasının ve apoptotik yolun ana düzenleyicisidir ve MetAP2 inhibisyonu insan mesoteliomada terapötik yaklaşım için güçlü bir hedef olarak görülmektedir. Bu bilgiler ışığında, etodolak tiyoeter bileşiklerinin benzer aktiviteler gösterebileceği öngörülmüş ve çalışmalarımız bu yönde ilerletilmiştir.

5. DENEYSEL BÖLÜM

5.1. Araç ve Gereçler

5.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etodolak¹, hidrazin-hidrat (%80 Merck), metilizotiyosiyanat, fenilizotiyosiyanat, etilizotiyosiyanat (Fluka), sodyum hidroksit (Merck), sülfürik asit (Merck), hidroklorik asit (Merck), petrol eteri (Merck), metanol (Merck), etanol (Merck), benzil klorür (Sigma Aldrich), 2-klorobenzil klorür (Sigma Aldrich), 4-klorobenzil klorür (Sigma Aldrich), 2,6-diklorobenzil klorür (Aldrich), 4-fluorobenzil klorür (Fluka), 4-metilbenzil klorür (Sigma Aldrich), 4-nitrobenzil klorür (Sigma Aldrich).

5.1.2 Kullanılan Elektronik Cihazlar

Infrared Spektrofotometre	Shimadzu FTIR-8400 S
Elemental Analiz Cihazı*	CHNS-932 (LECO)
¹H-NMR Spektrometresi*	BRUKER 300 MHz Ultrashield TM
¹³C-NMR Spektrometresi*	Bruker Avance DPX 400
Paralel Sentez Sistemi	Memmert Su Banyosu
Erime Derecesi Cihazı	Schmelzpunktbestimmer SMP II, Mettler Toledo MP70
Kütle Spektrometresi	Agilent 1100 LC-MS
*Sentez bileşiklerinin Elemental ve ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR Spektrometre analizleri yapı aydınlatmaları, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde yaptırılmıştır.	

¹ Etken madde Bilim İlaç San ve Tic. A. Ş. 'den temin edilmiştir.

5.2. Genel Sentez Yöntemleri

Metil 2-(1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)asetat [1]

Etodolak'ın (0.01 mol) metanoldeki çözeltisine (16 mL) sülfürik asit (0.5 mL) ilave edilir. Karışım 3 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılır, soğutulur. Reaksiyon ortamı NaHCO₃ çözeltisi (%10, a/h) ile muamele edilerek nötralizasyon sağlanır. Su ile yıkanır ve süzülür. Süzüntü üzerine metanol ilave edilir. Metanol ilave edilmiş katı, buzdolabında bir gece bekletilir. Elde edilen katı bileşik süzülür (Çıkla, Özşavcı ve ark., 2013).

2-(1,8-Dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)asetohidrazit [2]

Elde edilen etodolak esteri [1] (0.01 mol) metanolde (8 mL) çözündürülür. Üzerine hidrazin-hidrat (7 mL, %80) ilave edilerek 2 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtılır, soğutulur. Oluşan ham ürün süzülür, metanolden kristallendirilir (Çıkla, Özşavcı ve ark., 2013).

1-[2-(1,8-Dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)asetil]-4-alkil/aril tiyosemikarbazitler [3]

Etodolak hidrazidi [2] (0,01 mol) etanolde ısıtılarak üzerine eşit mol sayıda ilgili isotiyosiyanat ilave edilir ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtılır. Soğutulduğunda çöken ham ürün su ile yıkanır ve etanolden kristallendirilir (Çıkla, Arora ve ark., 2013).

5-[(1,8-Dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol-1-il)metil]-4-süstitüe-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiyonlar [4]

Etodolak tiyosemikarbazitlerin [3] (0.01 mol) üzerine NaOH (25 mL, 2N) ilave edilerek 2 saat su banyosunda kaynatılır. Oda temperaturünde soğutulduktan sonra HCl ile nötrale edilir, su ile yıkanır ve elde edilen ham ürün etanol ile saflaştırılır (Çıkla-Süzgün ve ark., 2015).

1-Etil-8-etil-1-{[4-metil-5-(süstitüesulfanil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5]

Etodolak 1,2,4-triazoller [4] (0.01 mol) dimetilformamit (DMF) ile çözölür, eşit mol sübstütö benzil klorör türevi ve K₂CO₃ (0.01 mol) ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında manyetik karıştııcı üzerinde 24 saat reaksiyona tabi tutulur. Reaksiyon süresi ince tabaka kromatografisi ile takip edilir. Reaksiyon bitimi sonrası buzlu su içeren behere aktarılır. Oluşan katı süzölür, Petrol eterinden yıkama yapılır ve etanol-su karışımından kristallendirilir.



5.3 Kromatografik Çalışmalar

Sentezlenen maddelerin reaksiyon takibi ve safsızlık kontrolleri İnce Tabaka Kromatografisi metodu ile yapılmıştır. İ.T.K. çalışmalarında, adsorban olarak 0.2 mm kalınlığındaki hazır silikajel F-254 (Merck) plakları (20×20 cm) kullanılmıştır.

Kullanılan çözücü sistemleri kromatografik çalışmalara uygun olarak hazırlanıp, oranları aşağıdaki gibidir:

S₁ :Petrol Eteri:Aseton (60:40) t: 20 °C)

S₂ :Petrol Eteri:Aseton (50:50) t: 25 °C)

S₃ :Petrol Eteri:Aseton (70:30) t: 20 °C)

5.4. Biyolojik Çalışmalar

5.4.1. Antikanser Aktivite Çalışmaları

5.4.1.1. Hücre Kültürü

Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonuna ait Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA) VERO maymun böbrek kanseri, HEPG2 insan karaciğer kanseri, SKOV3 insan yumurtalık kanseri, MCF7 insan göğüs kanseri ve PC3 insan prostat kanser hücreleri bu çalışmada kullanılmıştır.

VERO, SKOV3, MCF7, HEPG2 ve PC3 hücreleri *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM, Invitrogen) da muamele edilir. Bu hücreler 10% FBS, 2mM L-glutamin, 100U/mL penisilin, ve 100 µg/mL streptomisin içeren modifiye edilmiş RPMI-1640 hucre kultur medyumunu içerisinde flasklarda % 5 CO₂'li etüvde 37 °C' de hücreler tam tabaka olana kadar büyütülür. Büyütülen hücreler % 0.05 Tripsin-EDTA yardımıyla kaldırılarak pasajlama işlemi gerçekleştirilir. Hücrelerin morfolojik değişiklikleri mikroskop altında kontrol edilir.

5.4.1.2. MTT Kolorimetrik testi

MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromür) yönteminde belirli bir hücre yoğunluğundaki canlı hücrelerin kolorimetrik yöntemle tespit

edilmesidir. Bu yöntemde hücrelerin sağlam mitokondrisi içerisinde bulunan süksinat dehidrogenaz enziminin MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ile formazana dönüşmesi ilkesine dayanmaktadır (Baek ve ark., 1998).

Hücreler 96 kuyucuklu hücre kültür platelerine ekilerek sentezlenen bileşikler farklı konsantrasyonlarda (0 μ M, 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M, 500 μ M) 36 saat % 5 CO₂'li etüvde 37 °C' de inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında Vybrant® MTT hücre proliferasyon ölçüm kiti kullanılarak sitotoksite testi yapılır. Kullanılan çözeltiler 12 mM MTT stok solüsyon (5 mg MTT üzerine 1 mL PBS (pH:7.4) içerisinde çözülür) ve SDS-HCl solüsyonu (1 mg SDS 0.01 M HCl içerisinde çözülür ve hacim 10 mL'ye tamamlanır). VERO, SKOV3, MCF7, HEPG2 ve PC3 hücreleri sentezlenen ilaçlarla inkübe edildikten sonra medium atılarak 100 μ L taze medium eklenir. Hücrelerin üzerine 10 μ L 12 mM MTT stok solüsyonu eklenir ve 37 °C de 4 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında 100 μ L SDS-HCl solüsyonu eklenerek 37 °C de 4 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında 570 nm de elisa okuyucu (Epoch, Biotek USA) kullanılarak absorbans ölçümü yapılır.

5.4.2. Apoptoz Çalışmaları

5.4.2.1. Apoptoz Tayini

SKOV3 over kanser hücreleri 10 μ M konsantrasyondaki etodolak ve **5d**, **5h** bileşikleriyle farklı zamanlarda (0, 6, 12, 24. saatlerde) 12 kuyucuklu 2x10⁴ hücre/kuyucuk platelere 3 tekrar olarak muamele edilir. Hücre büyümeleri Zeiss Axio inverted microscope (10X) görüntüleme sistemi ile görüntülenir. Metilen mavisi suşları hücre büyümelerinin kantifikasyonu için kullanılır.

SKOV3 over kanser hücre hatlarındaki apoptozis Acridine orange ve ethidium bromide (AO/EB) ile ölçülür. 24 Saat inkübasyon süresi sonunda 10 μ M konsantrasyondaki etodolak ve türevleri **5d**, **5h** 12 kuyucuklu 2x10⁵ hücre/kuyucuk lara 3 tekrar olarak muamele edilir. Hücreler 1 μ g/mL konsantrasyonda AO/EB çözeltisi ile suşlanır ve mikroskop (Zeiss) ile flurosans hassasiyeti takip edilir. Yaşayan hücreler yeşil ile apoptotik hücreler kırmızı hassasiyette griplanır.

5.4.2.2. Kaspaz-3 Aktivite Ölçümü

SKOV3 ve PC3 hücreleri 12 kuyucuklu hücre kültür platlerine ekilir. Sentezlenen bileşikler 10 μ M konsantasyonda 0, 12, 24 ve 48 saat olacak şekilde % 5 CO₂'li etüvde 37 °C' de inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında hücre medyumları çekilen hücreler PBS ile 1 defa yıkanır ve özel patlatma tampon eklenerek hücre lizatları toplanır. Toplanan lizatlar 12.000xg de 4 °C'de 5 dakika santrifuj edilir ve üst fazda kaspaz-3 aktivitesi bakılır. Kaspaz-3 aktivitesi ticari kit yardımıyla kit protokolüne uygun olarak (KHZ0021, Invitrogen) ölçülür (Jaeschke ve ark., 1998).

Kaspaz-3 aktivitesi işaretlenmiş substrat olan DEVD-pNAnin kırılmasıyla açığa çıkan kromofor p-nitroanilitin (pNA) spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayanmaktadır. 96 lik Elisa plate içerisindeki kuyucuklara 50 μ L örnek ve üzerine 10 mM DTT içeren 2X reaksiyon tamponu konulur. Örnekler karıştırıldıktan sonra 5 μ L 4 mM DEVD-pNA substratı eklenerek 37 °C de 2 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrasındaki renk değişimi 405 nM de elisa okuyucusunda (Epoch, Biotek USA) ölçüm yapılır.

5.4.2.3. Hücre Zamana Bağlı Büyüme Hızları Ölçümü

PC3 hücreleri 24 kuyucuklu playtlere 5×10^4 hücre olacak şekilde eşit miktarda ekilerek 10 μ M konsantrasyonda sentezlenen bileşiklerde 12,24 ve 48 saat % 5 CO₂'li etüvde 37⁰ C' de inkübe edilir. İnkübasyon sonrasında hücreler PBS ile playt içerisinde yıkanır ve metilen mavisi boyaması yapılır. Yıkanan hücreler %1 SDS ile lysis edilir ve % 0.01 metilen mavisi çözeltisi kullanılarak boyamaları yapılır. Örneklerin renk değişimleri 600 nm de elisa okuyucusunda okunarak hücrelerin zamana bağlı büyüme hızları hesaplanır (Sheila ve ark., 1975).

5.4.2.4. Western Blot Yöntemi

SKOV3 hücreleri liziz tamponunda homojenize edilir ve protein konsantrasyonları Bradford (Biorad) reaktifi ile tayin edilir. Proteinler SDS-PAGE ile ayrılır ve PVDF membran (Santa Cruz) üzerine transfer edilir. Membran %3'lük

BSA (bovine serum albumine) ile oda sıcaklığında bloklanır ve birincil antikorlar ile inkübe edilir. Membran, birincil antikor çözeltisinde gece boyu +4 °C buzdolabında bekletilir. Anti-Caspase-3 (1:500), anti-Caspase-8 (1:500), anti-Caspase-9 (1:500), Santa Cruz birincil antikorlar ile inkübe edildikten sonra membran horseidsh-peroksit konjuge ikincil antikor ile oda sıcaklığında inkübe edilir. Bantlar Kemiluminesans western blot dedeksiyon reaktifi ile görüntüleme sisteminde görüntülenir. β -Actin protein seviyeleri eşit protein yüklemesinin doğrulanması için kontrol olarak kullanılır.

5.5. Moleküler Modelleme Çalışmaları

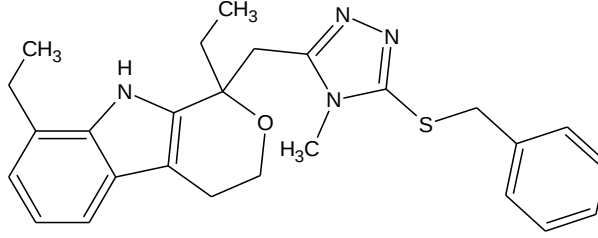
Proteinlerin ve bileşiklerin hazırlanması BIOVIA Discovery Studio 4 ile yürütülmüştür. Reseptörlerin kristal yapıları PDB veritabanından (<http://www.rcsb.org/pdb/>). 1QZY giriş kodu ve 1.60 Å rezolüsyon ile indirilmiştir. Protein yapıları inhibitörlerden, su moleküllerinden ve etkileşimde olmayan iyonlardan temizlenmiştir. Proteine bütün hidrojenler eklenmiştir ve protein “Clean Geometry” araç kiti ile minimize edilmiştir ve bütünsel bir optimizasyon için “Prepare Macromolecule” protokolü onaylanmıştır. Kayıp hidrojen atomları protonlanma basamağında pH 7.4’de eklenmiştir. CHARM kuvvet alanı oluşturulmuştur.

Bileşikler aynı kuvvet alanında çizilmiş ve minimize edilmiştir. Hazırlıklardan sonra modelleme AutoDock 4.2 programme (<http://autodock.scripps.edu>) ile yürütülmüştür. Bütün bileşikler hareket kabiliyeti yüksek, protein ise sabit olarak ayarlanmıştır. Autodock lineer regresyon analizinden oluşan serbest enerji puanlama fonksiyonu, AMBER kuvvet alanı, ekler ve farklı protein ligand seti bilinen inhibitör sabitleri ile komplekşir. Bağlanma paketi (grid box) merkezi için HIS231 kullanılır. Grid box boyutu 60, 60, 60 olarak ayarlanır. Arama algoritmaları Lamark genetik algortimalarını içerir.

Bağlanmayan etkileşimlerin görüntülenmesi için de BIOVIA Discovery Studio 4.5. kullanılır.

6. BULGULAR

1-[[5-Benzilsulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5a]



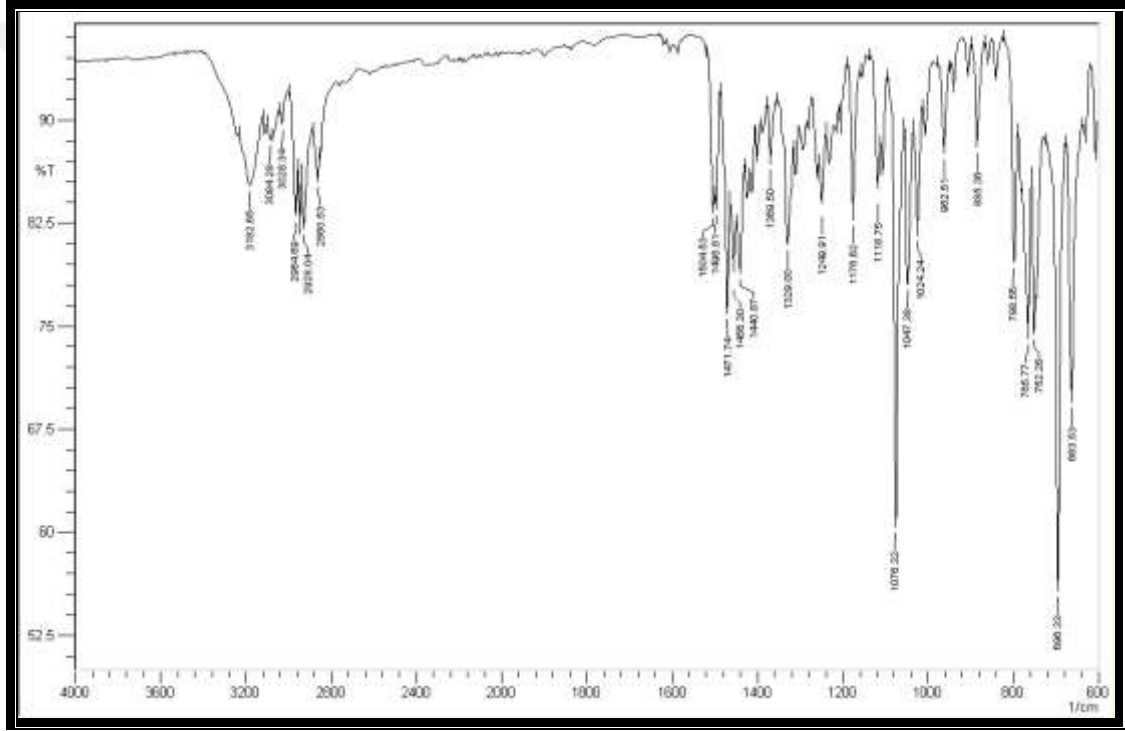
Verim (%)	: 62.55
R_f	: 0.37 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte toz madde
Erime noktası	: 162.0 – 163.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₃₀ N ₄ OS. ½ H ₂ O için M.A. 455.62 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 68.54	H: 6.86	N: 12.30	S: 7.04
Bulunan (%)	C: 68.78	H: 6.61	N: 12.34	S: 6.81

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

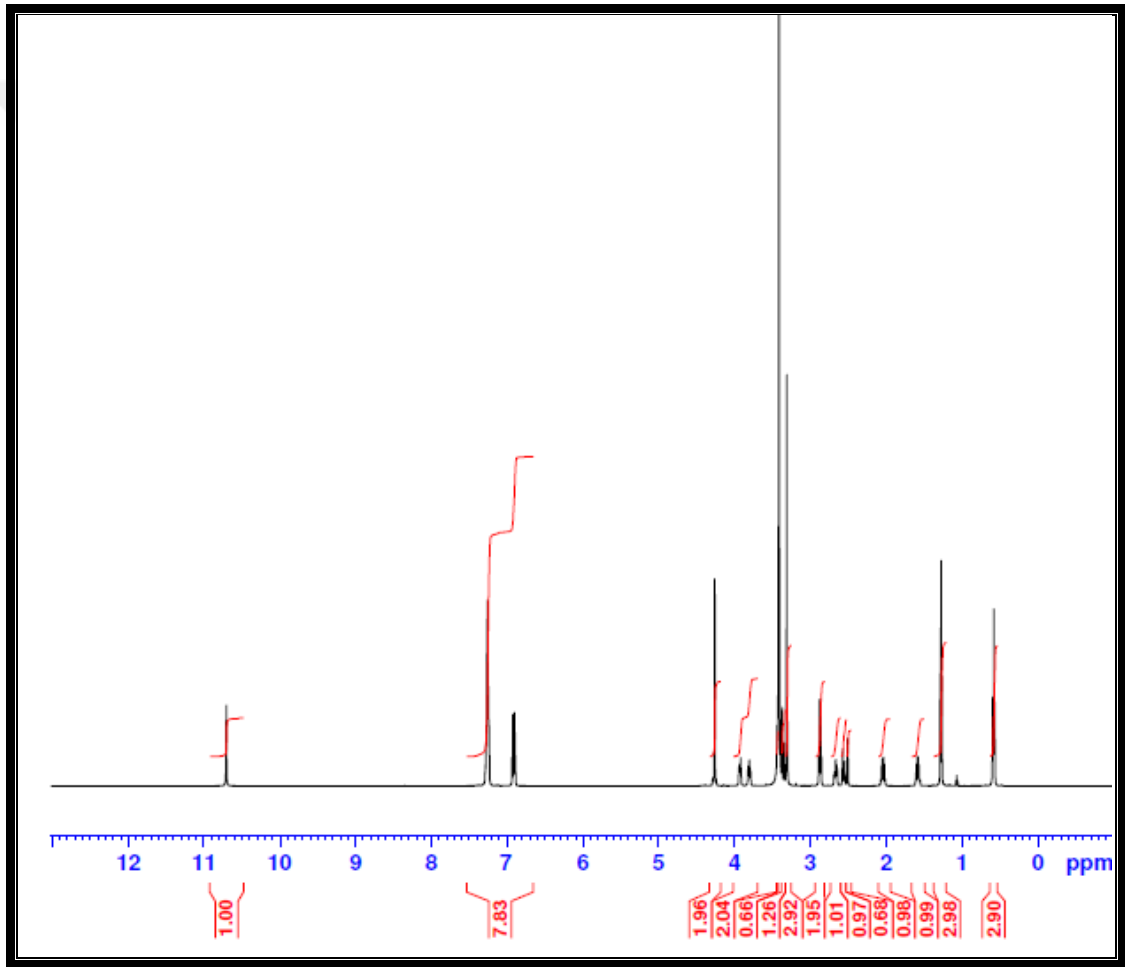
ν_{maks} (cm^{-1}): 3182 (İndol N-H g.b.); 3084, 3028 (Aromatik C-H g.b.) 2964, 2928 (Alifatik asimetrik C-H g.b); 2860 (Alifatik simetrik C-H g.b); 1504, 1496, 1471, 1458, 1440 (N-H e.b., C=N g.b., Aromatik C=C g.b.); 1369, 1329 (-CH₃ grubu asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1249 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 801, 754 (monosüstitüe benzen); 696 (C-S e.b.) (Şekil 1.)



Şekil 1. Bileşik 5a IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

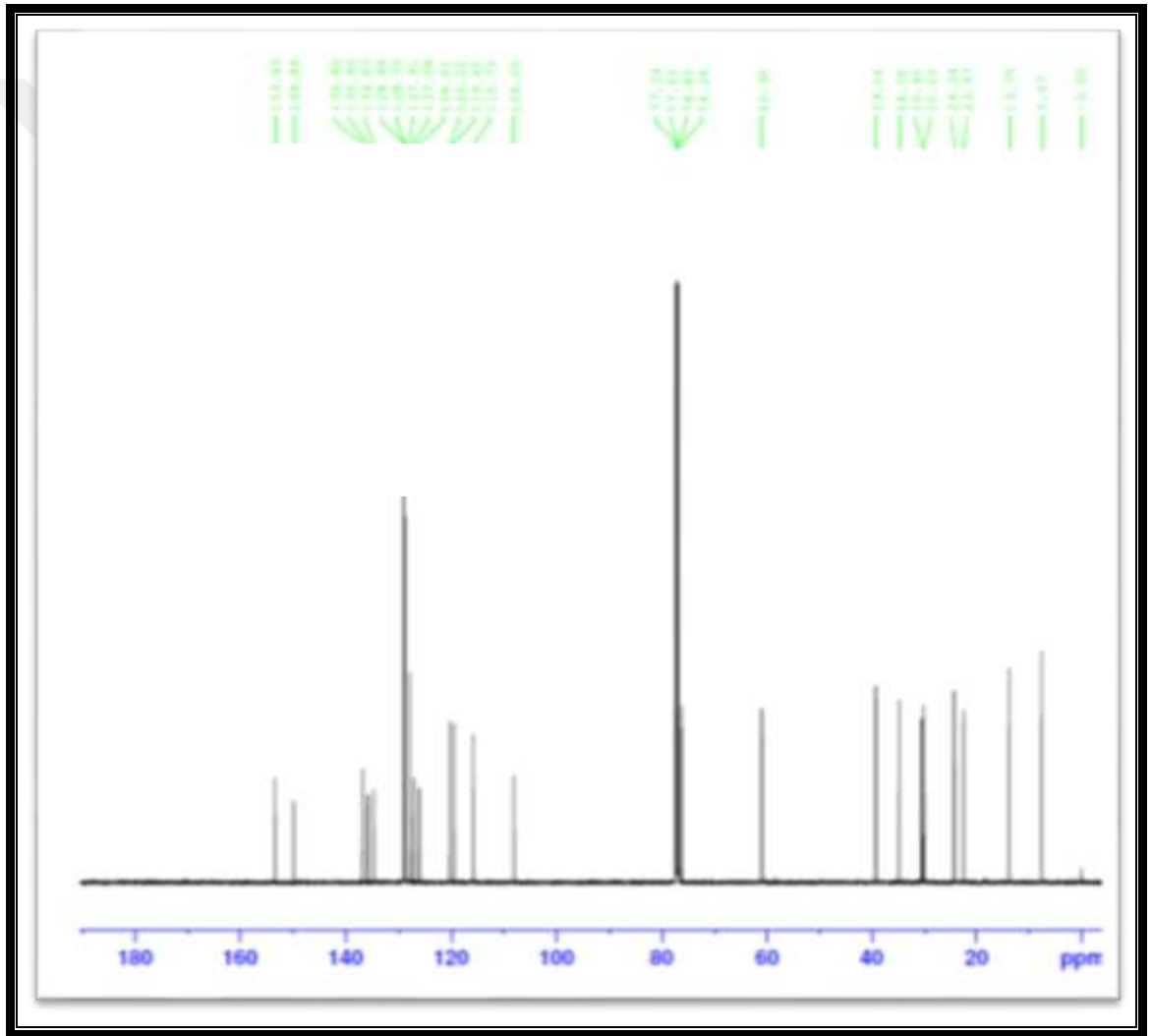
(600 MHz) (DMSO-d₆/TMS) δ ppm: 0.58 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.27 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı CH₂-CH₃); 1.56 - 2.07 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.50-2.89 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂); 3.31- 3.44 (m, 5H, 4 no.lu konumdaki -CH₂ ve N-CH₃); 3.78-3.90 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.26 (s, 2H, S-CH₂); 6.89-7.29 (m, 8H, Ar-H); 10.70 (s, 1H, indol N-H). (Şekil 2.)



Şekil 2. Bileşik 5a ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu:

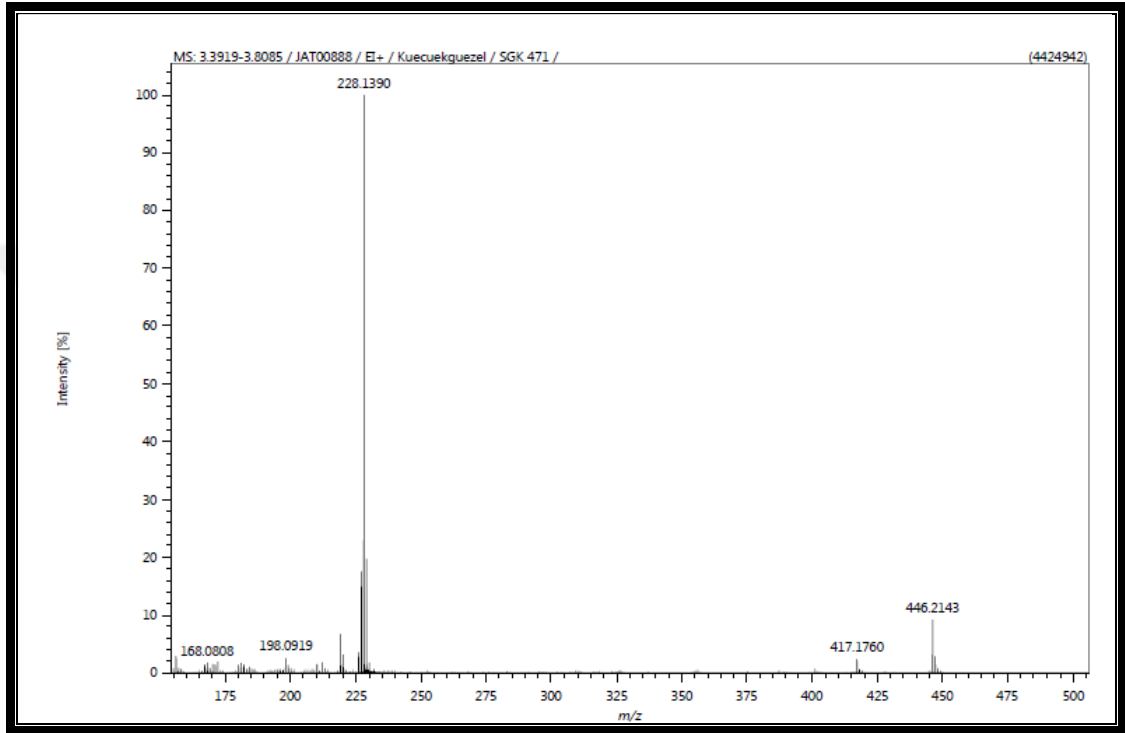
(150 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.61 (C-12); 13.79 (C-10); 22.49 (N-CH₃); 24.29 (C-9); 30.05 (C-4); 30.45 (C-11); 34.81 (C-13); 36.83 (S-CH₂); 60.98 (C-3); 76.24 (C-1); 76.62, 77.05, 77.25, 77.47 (çözücü pikleri); 108.08 (C-4a); 115.77 (C-6); 119.45 (C-5); 120.27 (C-7); 126.01 (C-5a); 126.98, 127.08 (C-2' ve C-6'); 129.38 (C-4'); 129.80, 131.00 (C-3' ve C-5'); 134.17 (C-8); 134.64 (C-1'); 134.68 (C-1a); 135.78 (C-8a); 149.64 (triazol $\underline{C}=\underline{N}$); 153.58 ($=\underline{C}-\underline{S}$) (Şekil 3.)



Şekil 3. Bileşik 5a ¹³C-NMR Spektrumu

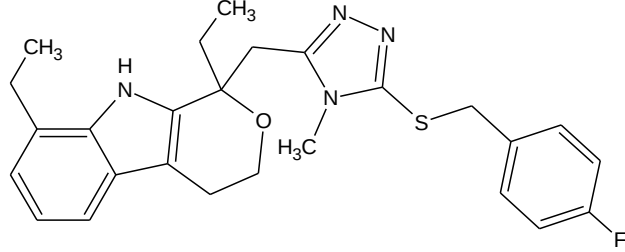
Kütle Spektrumu:

HR-MS [(EI⁺) , m/z (%]): 446.2143 ([M⁺], 9.16), 417.1760 (2.33), 229.1422 (17.54), 228.1390 (100.0), 227.1308 (15.58), 219.0832 (5.81), 198.0920 (2.34), 156.0813 (2.71), 91.0548 (11.86), 57.0339 (4.00) (Şekil 4).



Şekil 4. Bileşik 5a Kütle Spektrumu

1-{{5-(4-Fluorobenzil)sulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5b]



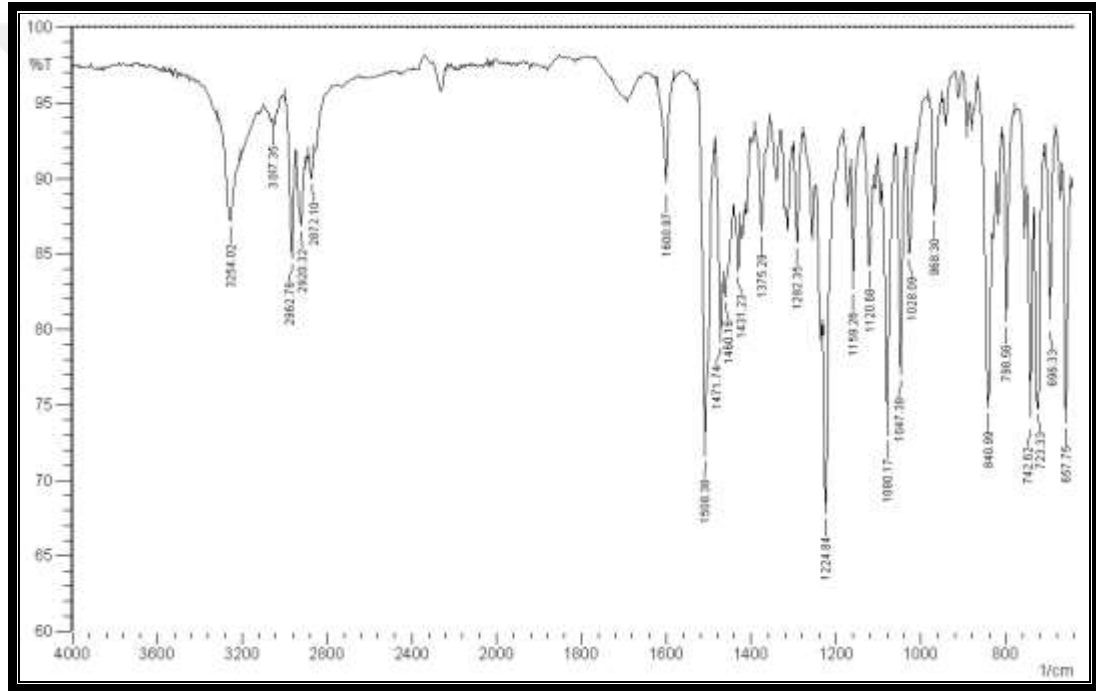
Verim (%)	: 47.30
R_f	: 0.10 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Açık sarı renkte billur madde.
Erime noktası	: 161.1 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO'da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ OS için M.A. 464.59 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 67.21	H: 6.29	N: 12.06	S: 6.90
Bulunan (%)	C: 66.55	H: 6.68	N: 11.36	S: 6.35

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

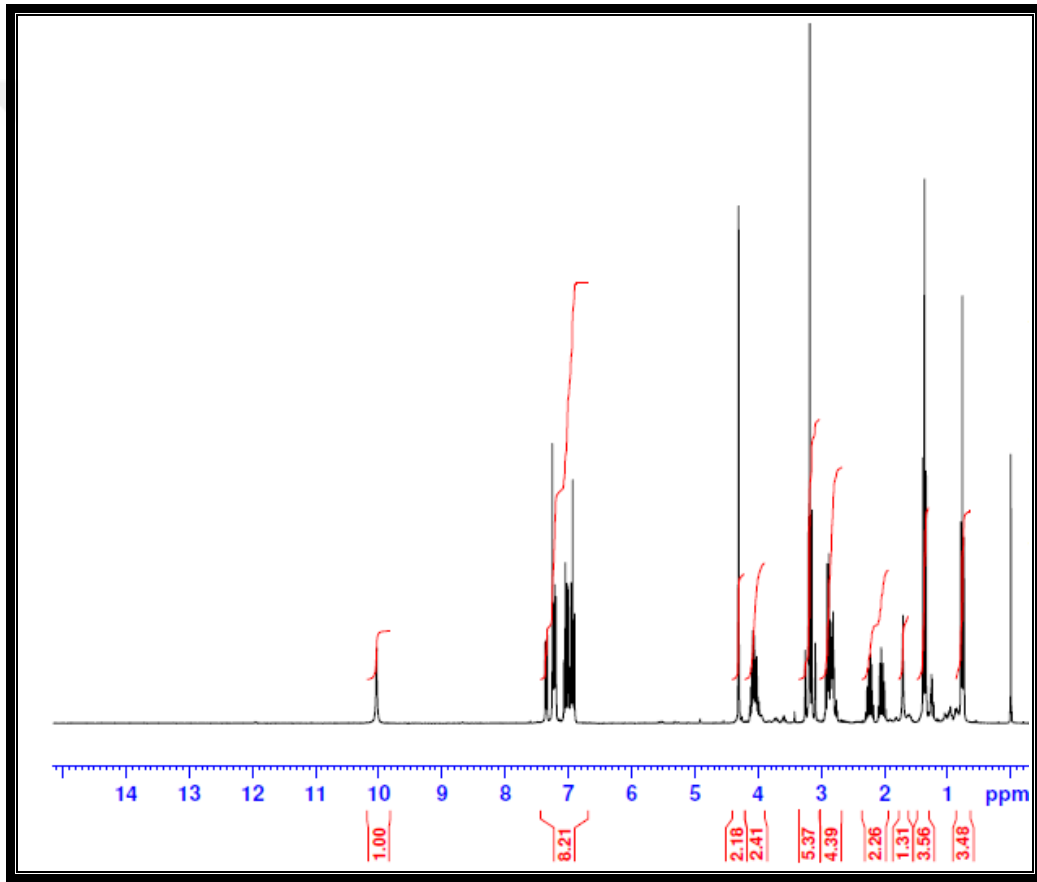
ν_{maks} (cm^{-1}): 3254 (İndol N-H g.b.); 3017 (Aromatik C-H g.b.) 2963, 2920 (Alifatik asimetrik C-H g.b.); 2872 (Alifatik simetrik C-H g.b.); 1601, 1508, 1472, 1460, 1413 (N-H e.b., Aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1375, 1292 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1225 (C-S g.b.); 1080 (piran C-O g.b.); 742, 696 (p-süstitüe benzen); 657 (C-S e.b.) (Şekil 5.)



Şekil 5. Bileşik 5b IR Spektrumu

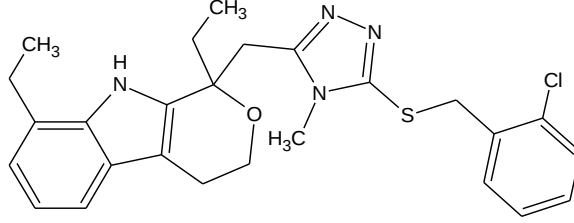
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.71 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 1.98 – 2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.80 – 2.93 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.09 – 3.25 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 3.98 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.31 (s, 2H, S-CH₂); 6.95 – 7.36 (m, 7H, Ar-H); 10.04 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 6).



Şekil 6. Bileşik 5b ¹H-NMR Spektrumu

1-[[5-(2-Klorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5c]



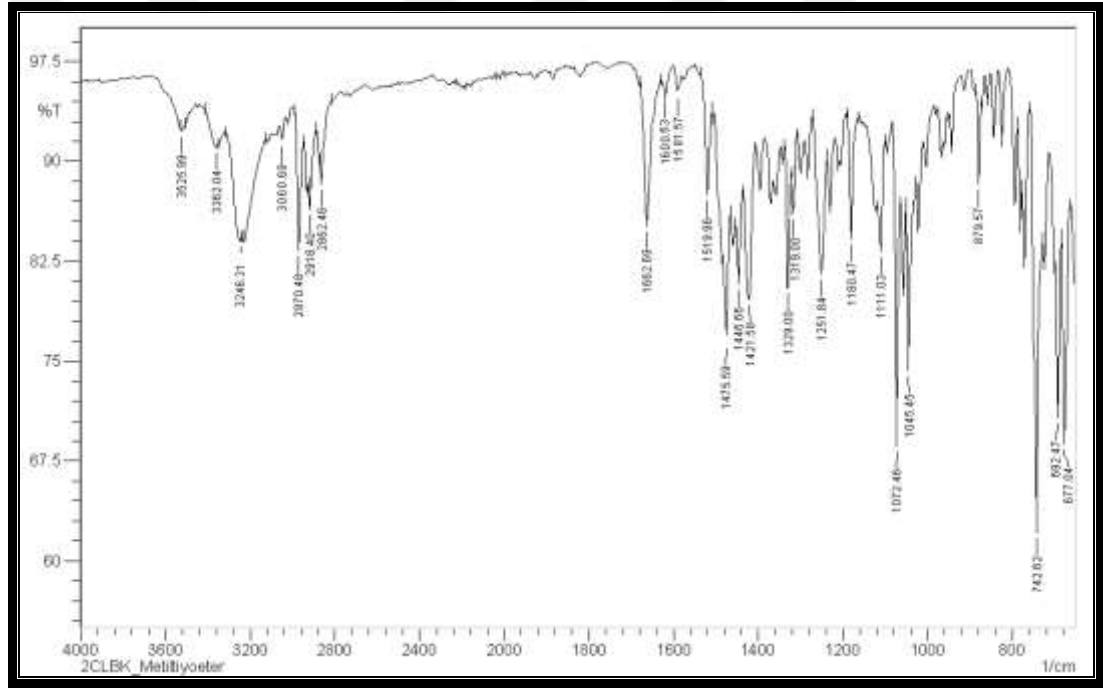
Verim (%)	: 52.0
R_f	: 0.19 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte billur madde.
Erime noktası	: 153.4 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO'da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ OS.H ₂ O için M.A. 499.05 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 62.57	H: 6.26	N: 11.23	S: 6.42
Bulunan (%)	C: 61.78	H: 6.15	N: 11.30	S: 6.33

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

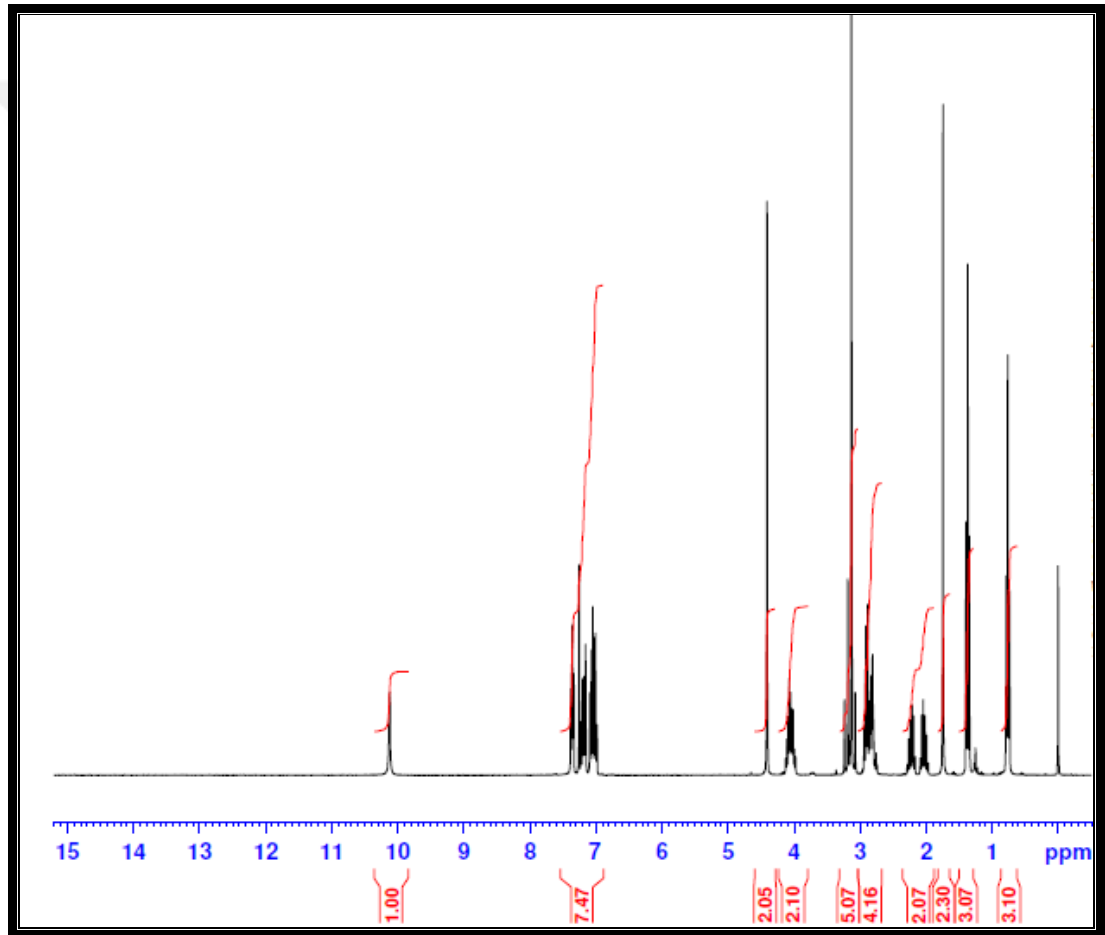
ν_{maks} (cm^{-1}): 3526 (molekölün tuttuğu suyun O-H g.b.); 3246 (İndol N-H g.b.); 3061 (Aromatik C-H g.b.); 2970, 2918 (Alifatik asimetrik C-H g.b.); 2862 (Alifatik simetrik C-H g.b.); 1663 (N-H e.b.); 1601, 1582 (tirazol C=N g.b.); 1520, 1476, 1447, 1422 (N-H e.b., Aromatik C=C g.b.); 1329, 1319 (Asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1252 (C-S g.b.); 1072 (piran C-O g.b.); 743, 692 (o-sübstitüe benzen); 677 (C-S e.b.) (Şekil 7).



Şekil 7. Bileşik 5c IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

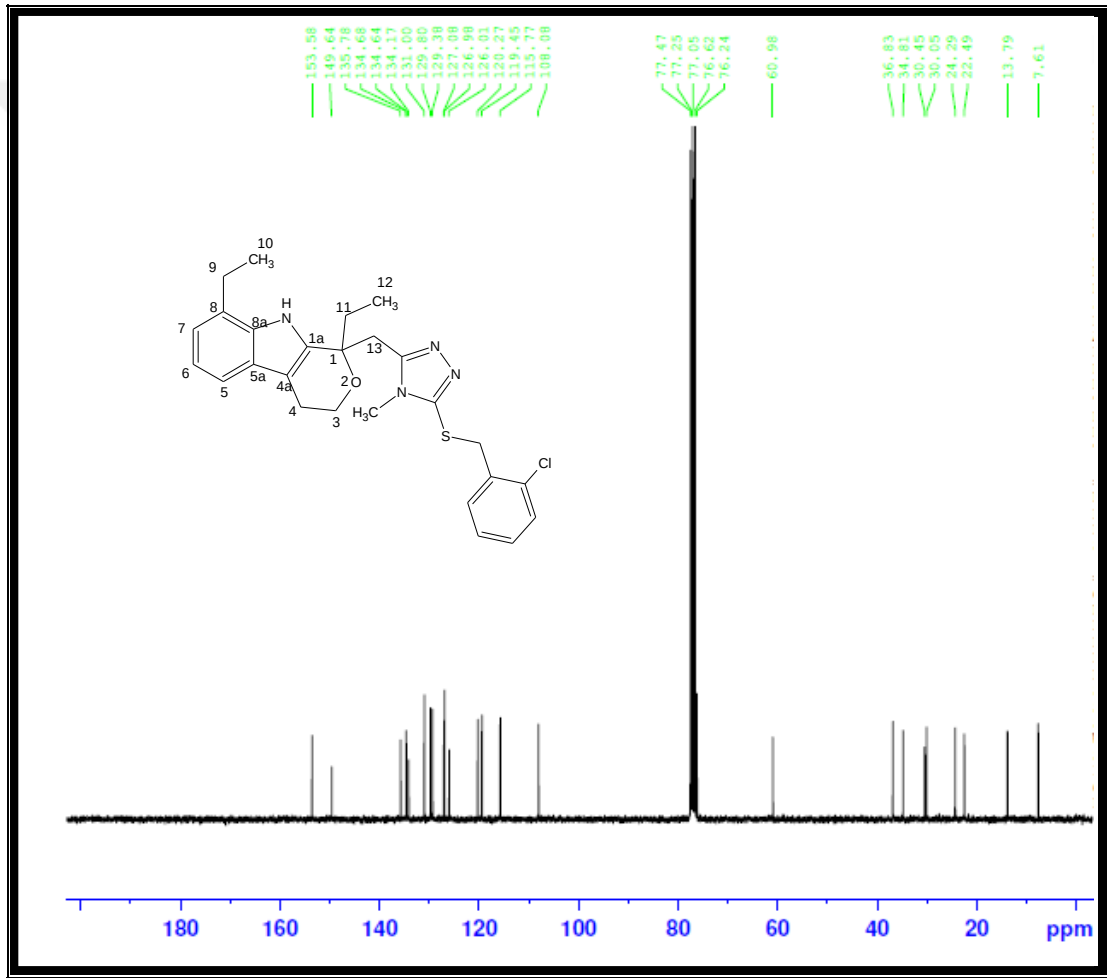
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.76 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.74 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 1.97 – 2.29 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.79 – 2.94 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂ -CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.07 – 3.24 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 3.98 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.41 (s, 2H, S-CH₂); 7.01 – 7.38 (m, 7H, Ar-H); 10.13 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 8).



Şekil 8. Bileşik 5c ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu:

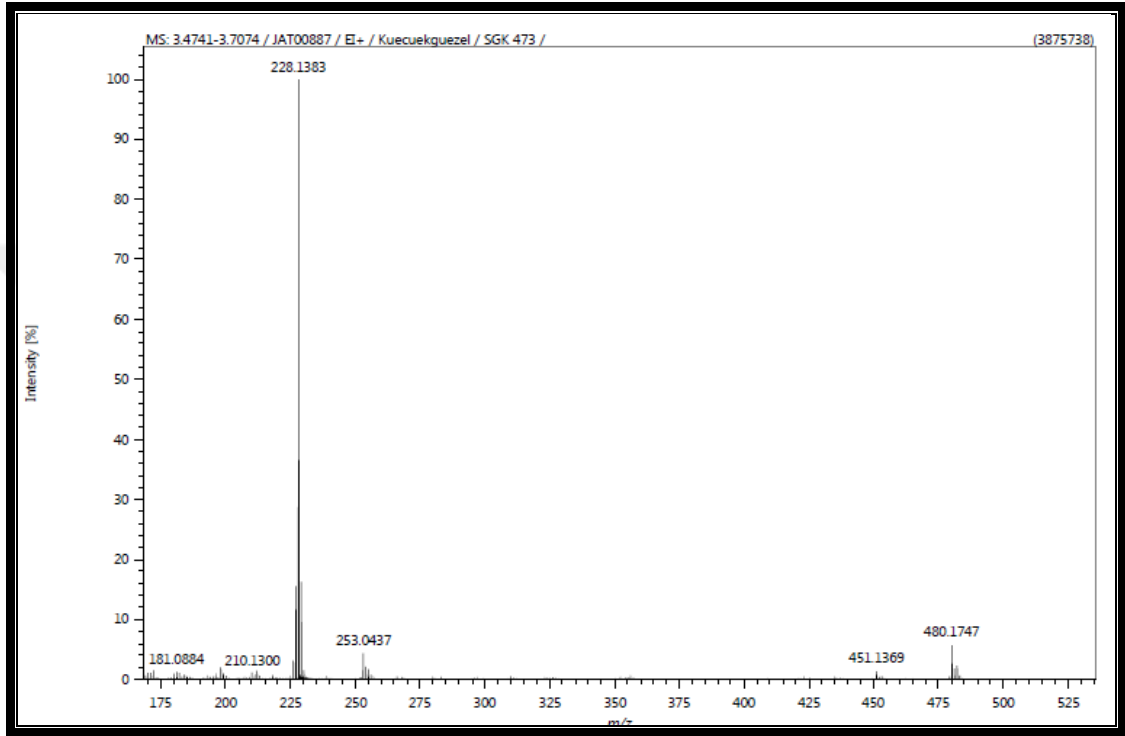
(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.57 (C-12); 13.75 (C-10); 22.47 (N-CH₃); 24.24 (C-9); 30.03 (C-4); 30.45 (C-11); 34.76 (C-13); 39.16 (S-CH₂); 60.95 (C-3); 76.26 (C-1); 76.82, 77.03, 77.24 (çözücü pikleri); 108.05 (C-4a); 115.73 (C-6); 119.42 (C-5); 120.22 (C-7); 126.01 (C-5a); 127.08 (C-2' ve C-6'); 127.81 (C-4'); 128.70 (C-3' ve C-5'); 128.89 (C-8); 134.67 (C-1'); 135.80 (C-1a); 136.80 (C-8a); 149.84 (triazol C=N); 153.43 (=C-S) (Şekil 9).



Şekil 9. Bileşik 5c ¹³C-NMR Spektrumu

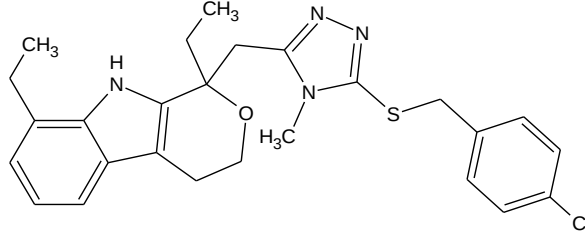
Kütle Spektrumu:

HR-MS [(EI+), m/z (%): 482.1728 ($[M+2]^+$, 2.78), 480.1747 ($[M^+]$, 6.80), 253.0437 (4.47), 229.1422 (16.77), 228.1383 (100.0), 227.1305 (15.49), 226.1231 (3.19), 198.0914 (2.03), 156.0810 (2.20), 125.0157 (5.60), 57.0338 (4.29) (Şekil 10).



Şekil 10. Bileşik 5c Kütle Spektrumu

1-[[5-(4-Klorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5d]



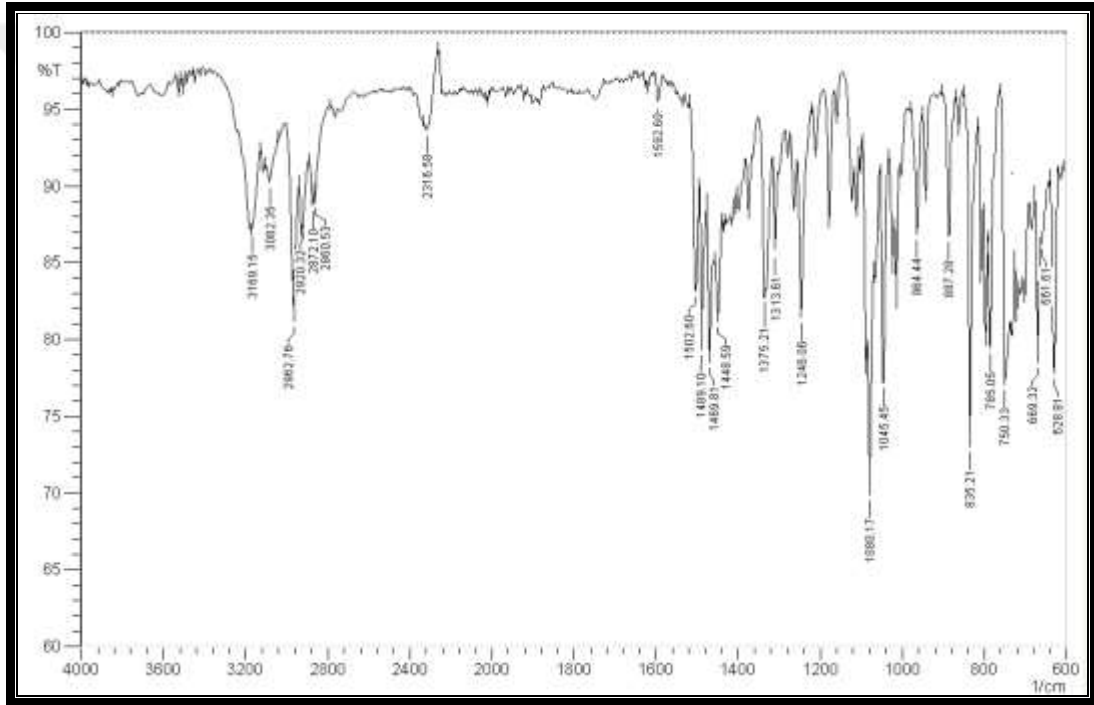
Verim (%)	: 38.4
R_f	: 0.53 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte toz madde
Erime noktası	: 116.0 – 119.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ OS. 3/2 H ₂ O için M.A. 508.05 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 61.46	H: 6.35	N: 11.03	S: 6.31
Bulunan (%)	C: 61.43	H: 5.97	N: 10.32	S: 5.81

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

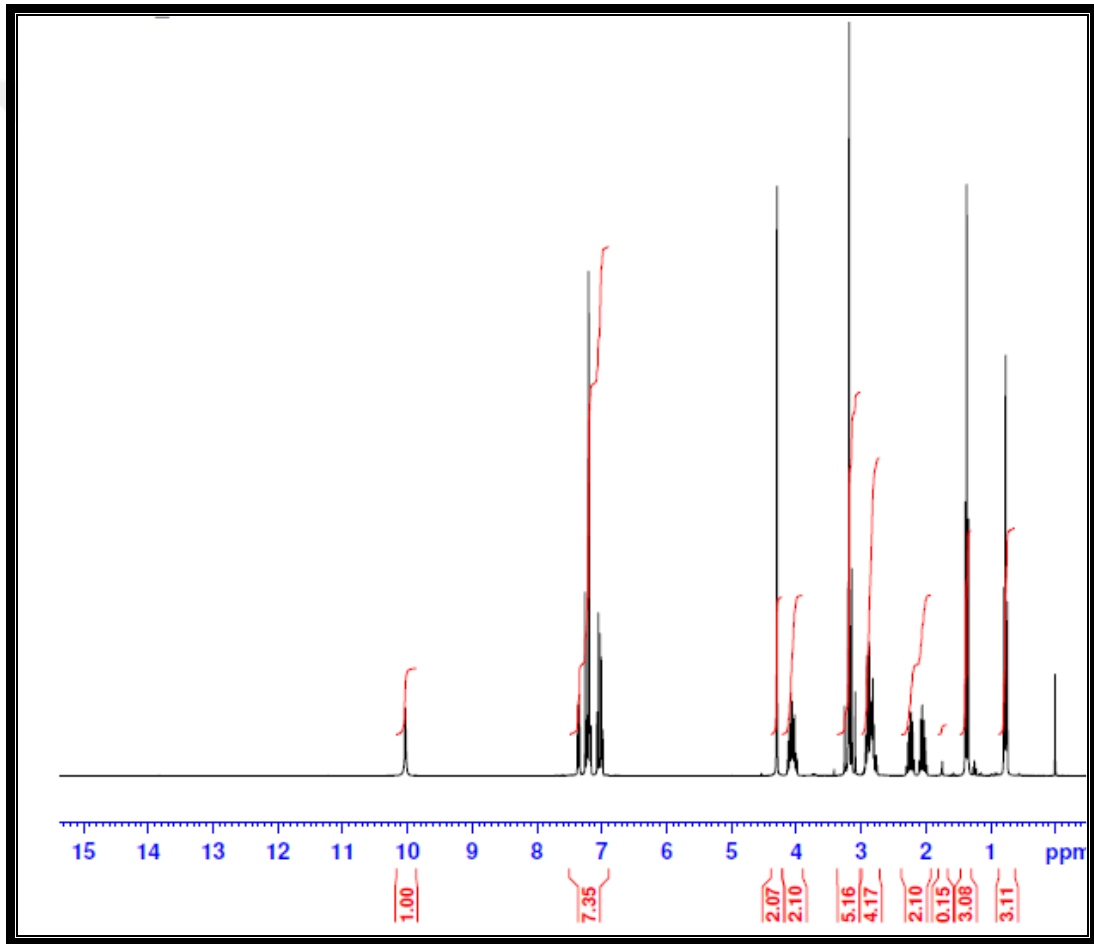
ν_{maks} (cm^{-1}): 3600 (molekölün tuttuğu suyun O-H g.b.); 3169 (İndol N-H g.b.); 3082 (Aromatik C-H g.b.) 2963, 2920 (Alifatik asimetric C-H g.b.); 2872, 2861 (Alifatik simetric C-H g.b.); 1592, 1503, 1489, 1470, 1449 (İndol N-H e.b., triazol C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1375, 1314 (asimetric ve simetric C-H e.b.); 1246 (C-S g.b.); 1080 (piran C-O g.b.); 750, 669 (p-süstitüe benzen); 628 (C-S e.b.) (Şekil 11).



Şekil 11. Bileşik 5d IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

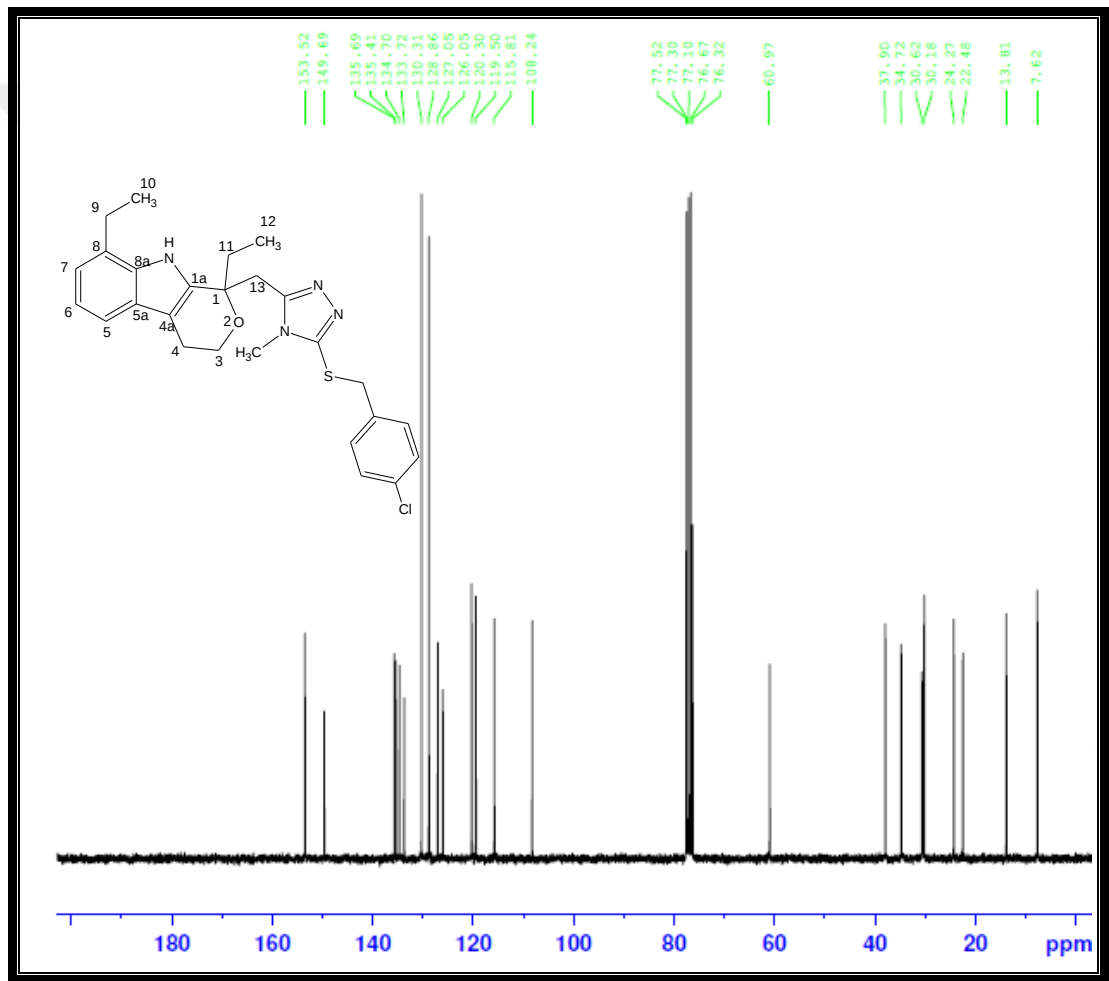
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.36 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.75 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 1.98 – 2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.76 – 2.92 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂ -CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.14 – 3.25 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 3.98 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.30 (s, 2H, S-CH₂); 6.99 – 7.37 (m, 7H, Ar-H); 10.03 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 12).



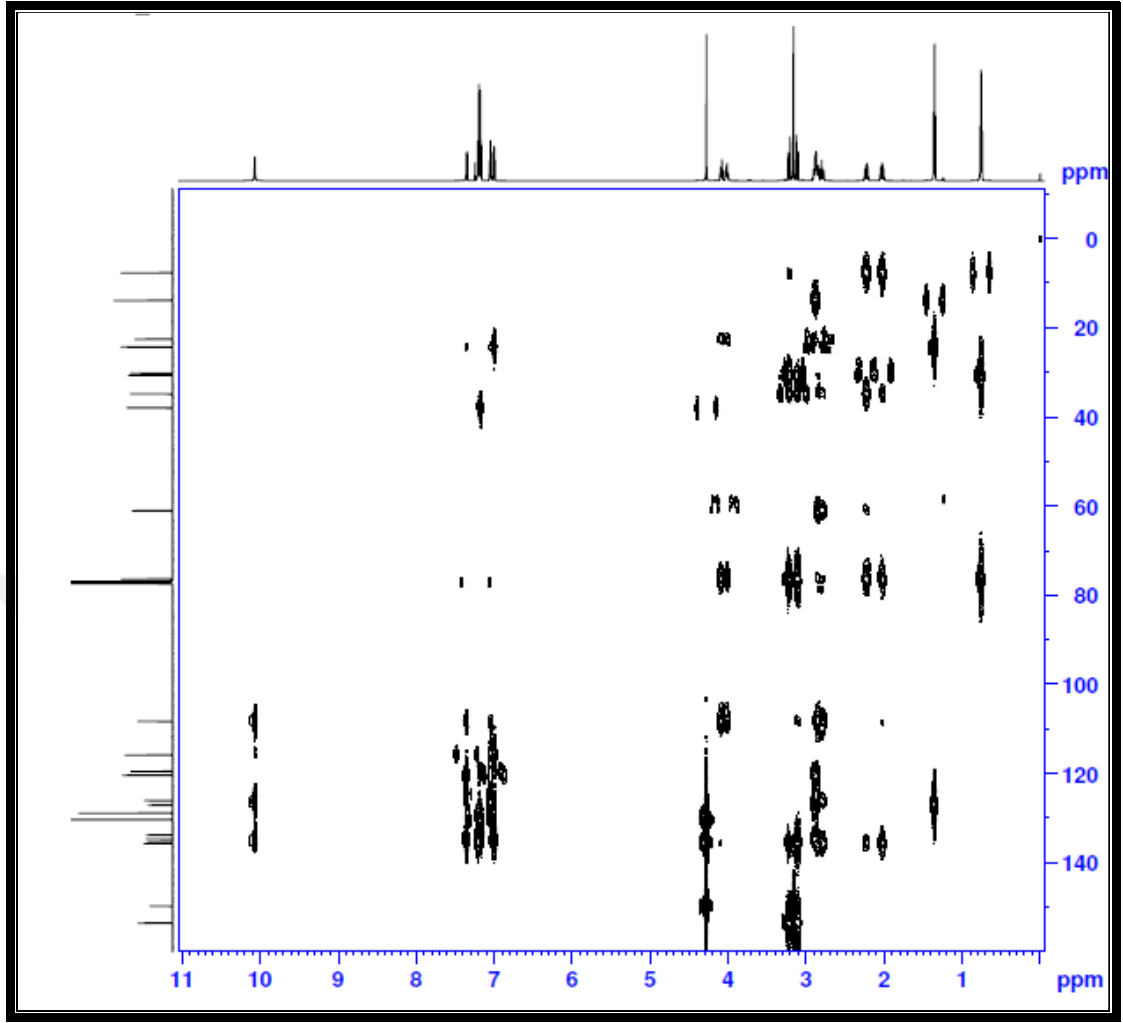
Şekil 12. Bileşik 5d ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu:

(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.62 (C-12); 13.81 (C-10); 22.48 (N-CH₃); 24.27 (C-9); 30.18 (C-4); 30.62 (C-11); 34.72 (C-13); 37.90 (S-CH₂); 60.97 (C-3); 76.32 (C-1); 76.67, 77.10, 77.30, 77.52 (çözücü pikleri); 108.24 (C-4a); 115.81 (C-6); 119.50 (C-5); 120.30 (C-7); 126.05 (C-5a); 127.05 (C-2' ve C-6'); 128.86 (C-4'); 130.31 (C-3' ve C-5'); 133.72 (C-8); 134.70 (C-1'); 135.41 (C-1a); 135.69 (C-8a); 149.69 (triazol C=N); 153.52 (=C-S) (Şekil 13).

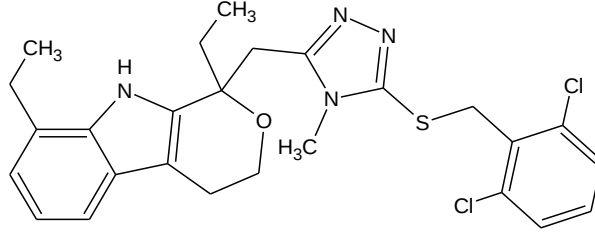


Şekil 13. Bileşik 5d ¹³C-NMR Spektrumu



Şekil 14. Bileşik 5d HMBC Spektrumu

1-[[5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5e]



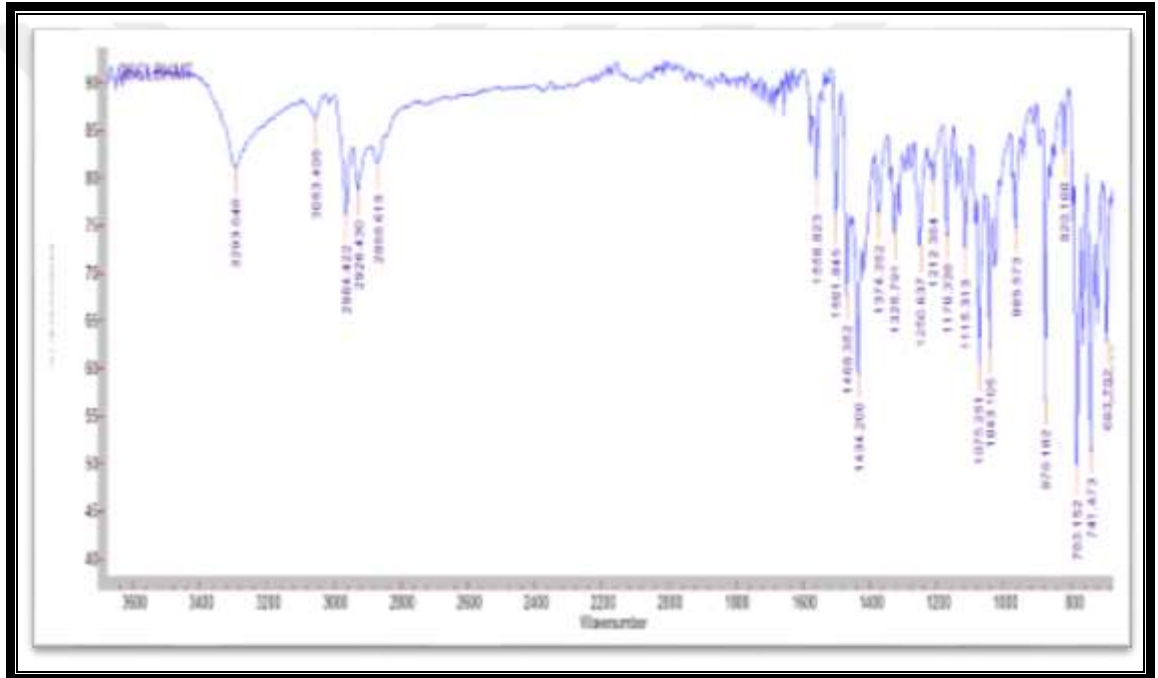
Verim (%)	: 68.0
R_f	: 0.57 (Petrol eteri: Aseton 50:50 (h/h), t: 25 °C)
Görünüş	: Beyaz billur madde
Erime noktası	: 145.0 – 147.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ OS. ½ H ₂ O için M. A. 524.51 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 59.54	H: 5.57	N:10.68	S: 6.11
Bulunan (%)	C: 59.01	H: 5.19	N: 10.52	S: 6.47

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

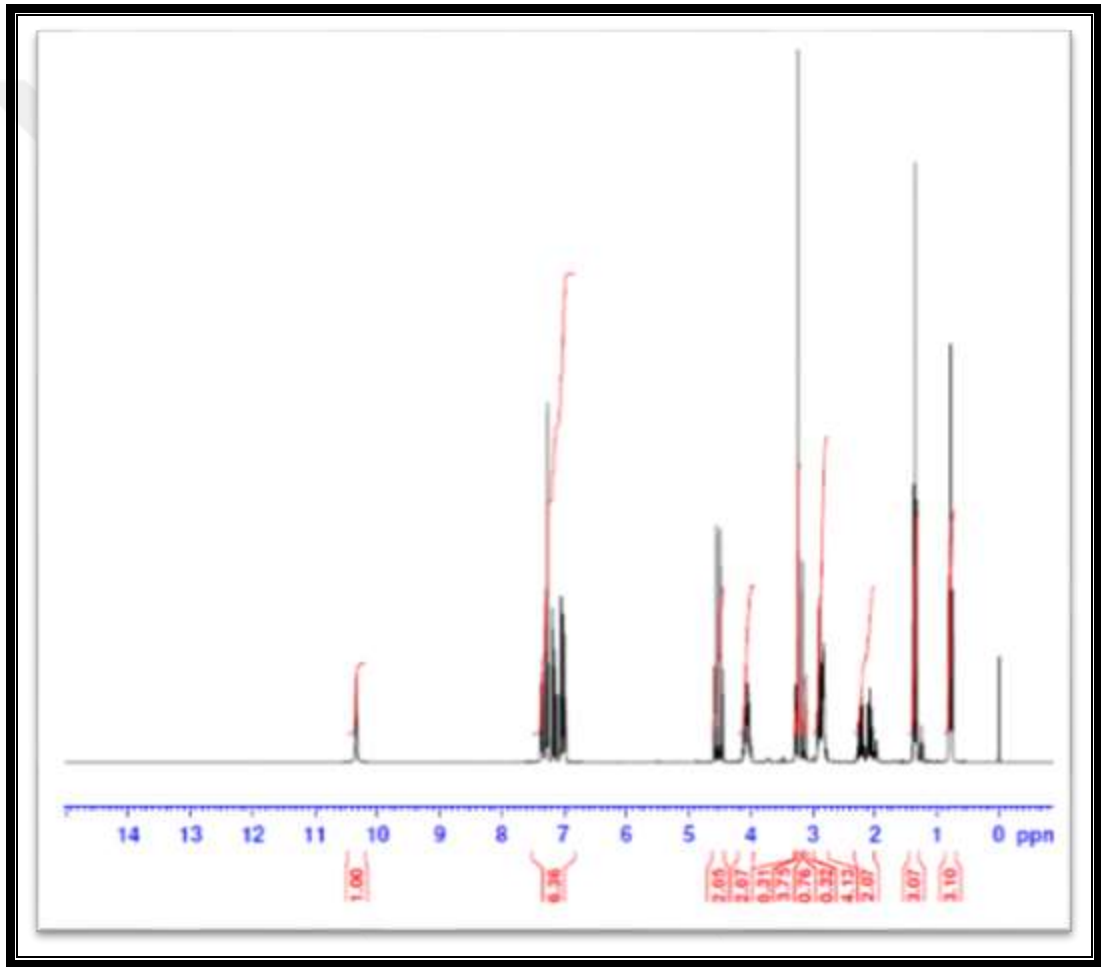
ν_{maks} (cm^{-1}): 3293 (İndol N-H g.b.); 3053 (Aromatik C-H g.b.); 2964, 2926 (Alifatik-asimetrik C-H g.b.); 2868 (Alifatik simetrik C-H g.b.); 1558, 1501, 1468, 1434 (İndol N-H e.b, C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1374, 1335 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1250 (C-S g.b.); 1075 (piran C-O g.b.); 783, 741, (süstitüe benzen); 693 (C-S e.b.) (Şekil 15).



Şekil 15. Bileşik 5e IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

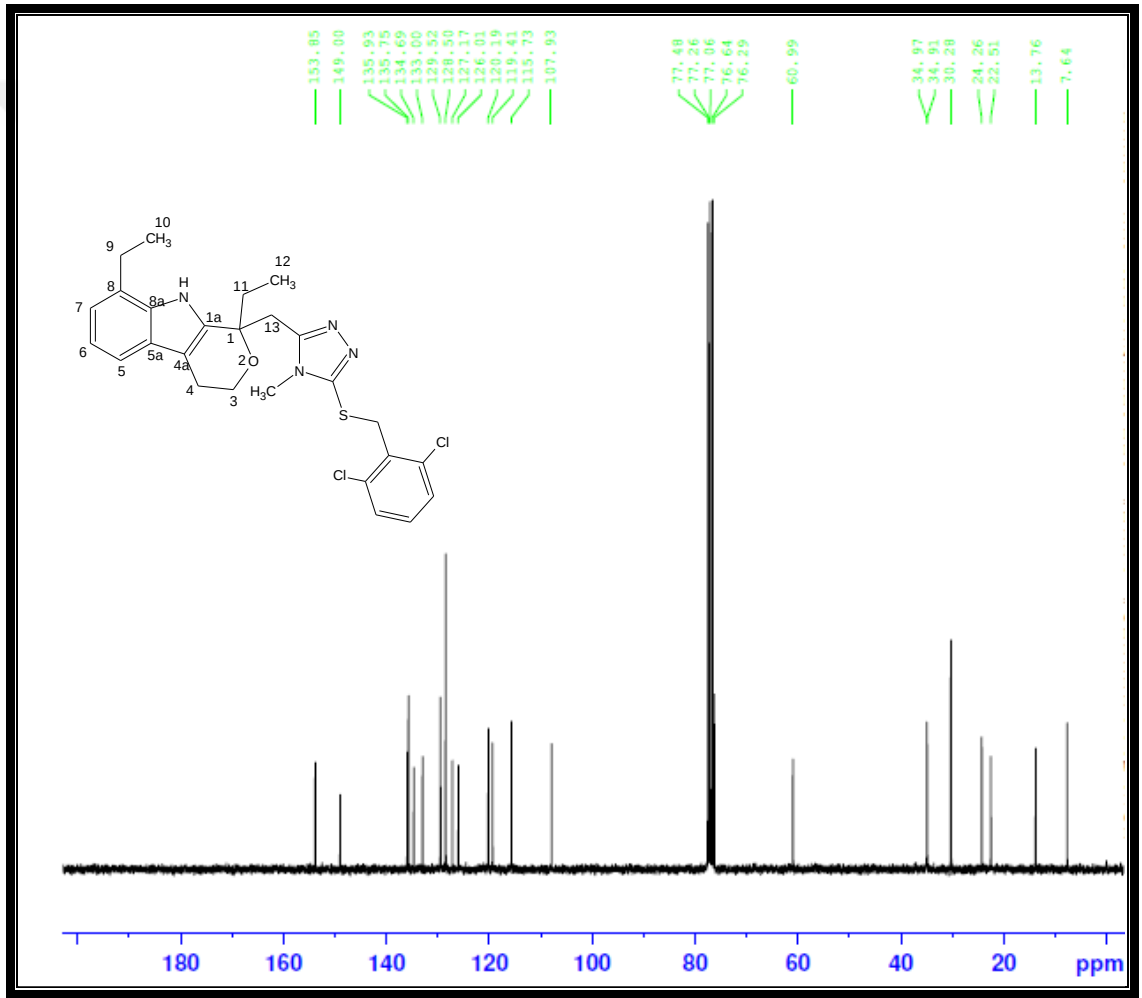
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.78 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.35 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.98 – 2.26 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.81 – 2.92 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.11 – 3.28 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 4.01 – 4.12 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.45 – 4.59 (dd, 2H, J=12.6 Hz, J=12.9 Hz, S-CH₂); 7.00 – 7.36 (m, 6H, Ar-H); 10.33 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 16).



Şekil 16. Bileşik 5e ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu:

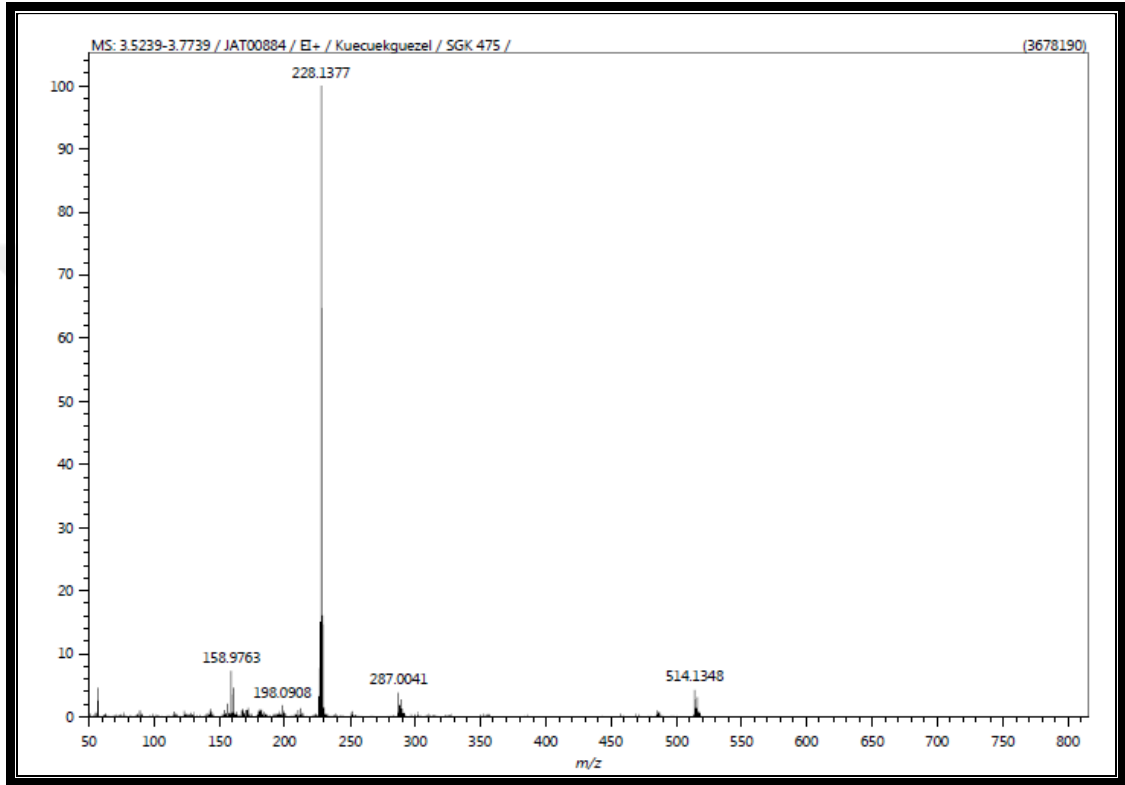
(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.64 (C-12); 13.76 (C-10); 22.51 (N-CH₃); 24.26 (C-9); 30.28 (C-4); 34.91 (C-11 ve C-13); 34.97 (S-CH₂); 60.99 (C-3); 76.29 (C-1); 76.64, 77.06, 77.26, 77.48 (çözücü pikleri); 107.93(C-4a); 115.73 (C-6); 119.41 (C-5); 120.19 (C-7); 126.01 (C-5a); 127.17 (C-2' ve C-6'); 128.50 (C-4'); 129.52 (C-3' ve C-5'); 133.00 (C-8); 134.69 (C-1'); 135.75 (C-1a); 135.93 (C-8a); 149.00 (triazol C=N); 153.85 (=C-S) (Şekil 17).



Şekil 17. Bileşik 5e ¹³C-NMR Spektrumu

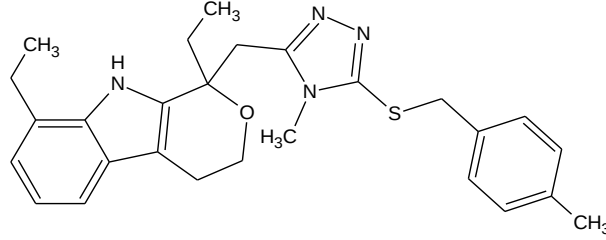
Kütle Spektrumu:

HR-MS [(EI⁺) , m/z (%): 516.1322 ([M+2]⁺, 3.84), 514.1348 ([M⁺], 5.29), 287.0041 (4.13), 229.1415 (16.80), 228.1377 (100.0), 227.1299 (15.15), 160.9733 (4.59), 158.9763 (7.15), 156.0806 (2.17), 57.0338 (4.08) (Şekil 18).



Şekil 18. Bileşik 5e Kütle Spektrumu

1-{{5-(4-Metilbenzil)sulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5f]



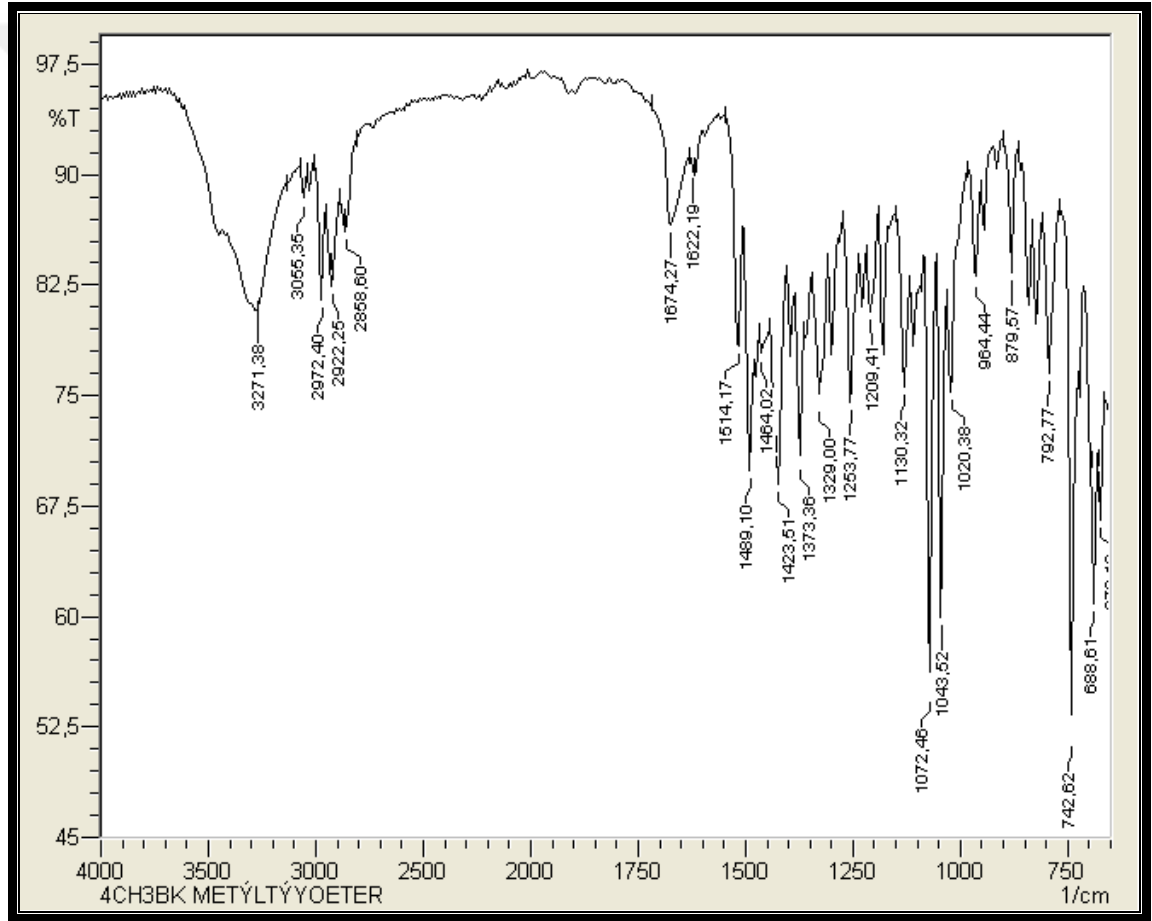
Verim (%)	: 68.5
R_f	: 0.55 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Açık sarı renkte billur madde.
Erime noktası	: 104.2 – 105.5 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₂ N ₄ OS.2H ₂ O için M.A. 496.66 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 65.29	H: 7.31	N: 11.28	S: 6.49
Bulunan (%)	C: 65.09	H: 6.90	N: 11.41	S: 6.52

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

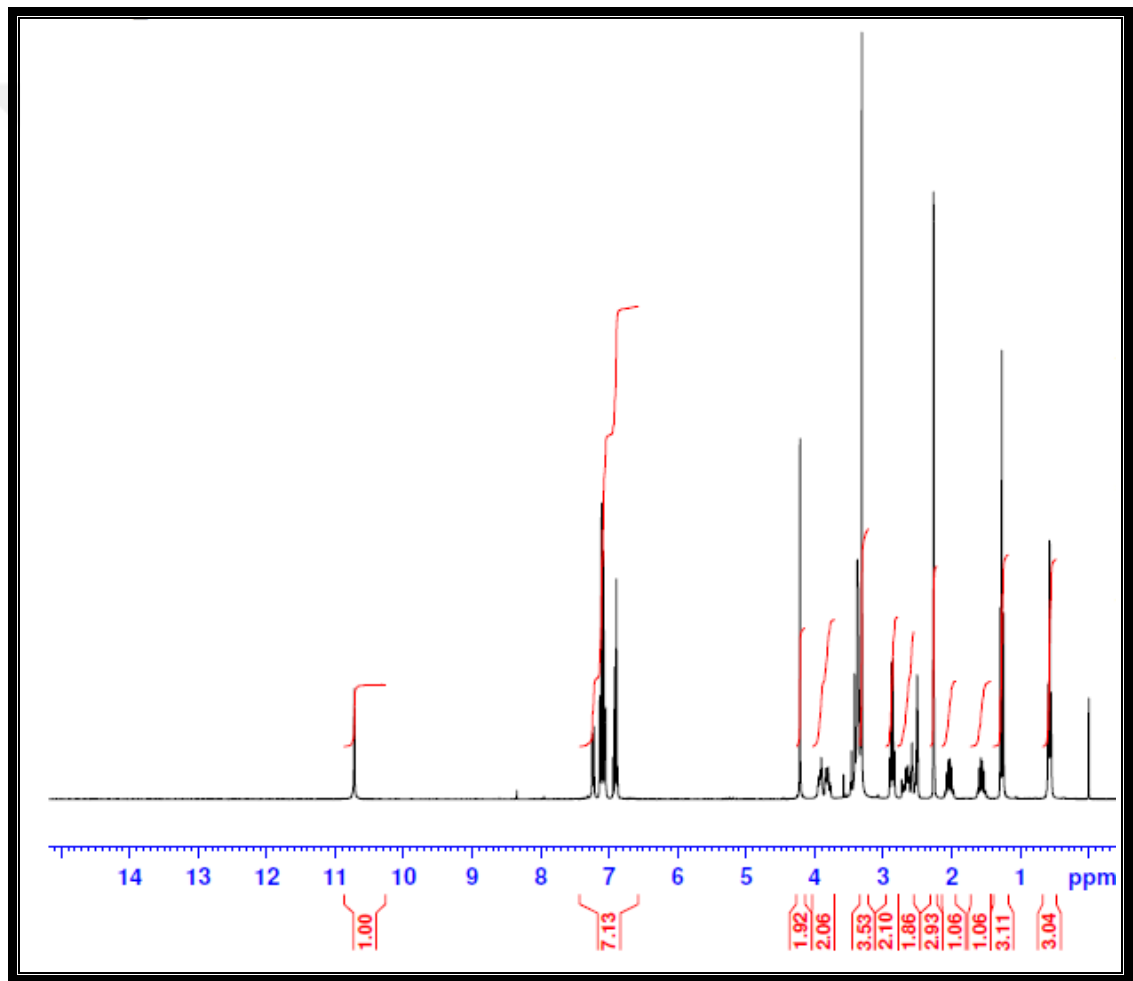
ν_{maks} (cm^{-1}): 3500 (OH g.b.); 3271 (indol N-H g.b.); 3055 (aromatik C-H g.b.) 2972, 2922 (alifatik asimetric C-H g.b.); 2858 (alifatik simetric C-H g.b.); 1674, 1622, 1514, 1498, 1464 (indol N-H e.b., C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1373, 1329 (asimetric ve simetric C-H e.b.); 1209 (C-S g.b.); 1072 (piran C-O g.b.); 792, 742 (monosubstitue benzen); 688 (C-S e.b.) (Şekil 19).



Şekil 19. Bileşik 5f IR Spektrumu

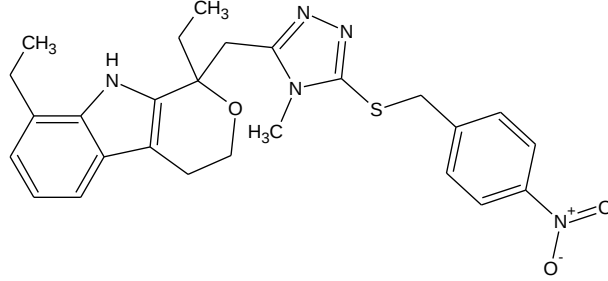
¹H-NMR Spektrumu

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.57 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.27 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.53 – 2.07 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.26 (Ar-CH₃); 2.53 – 2.90 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.31 – 3.47 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 3.77 – 3.95 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.22 (s, 2H, S-CH₂); 6.87 – 7.25 (m, 7H, Ar-H); 10.72 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 20).



Şekil 20. Bileşik 5f ¹H-NMR Spektrumu

1-[[5-(4-Nitrobenzil)sulfanil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5g]



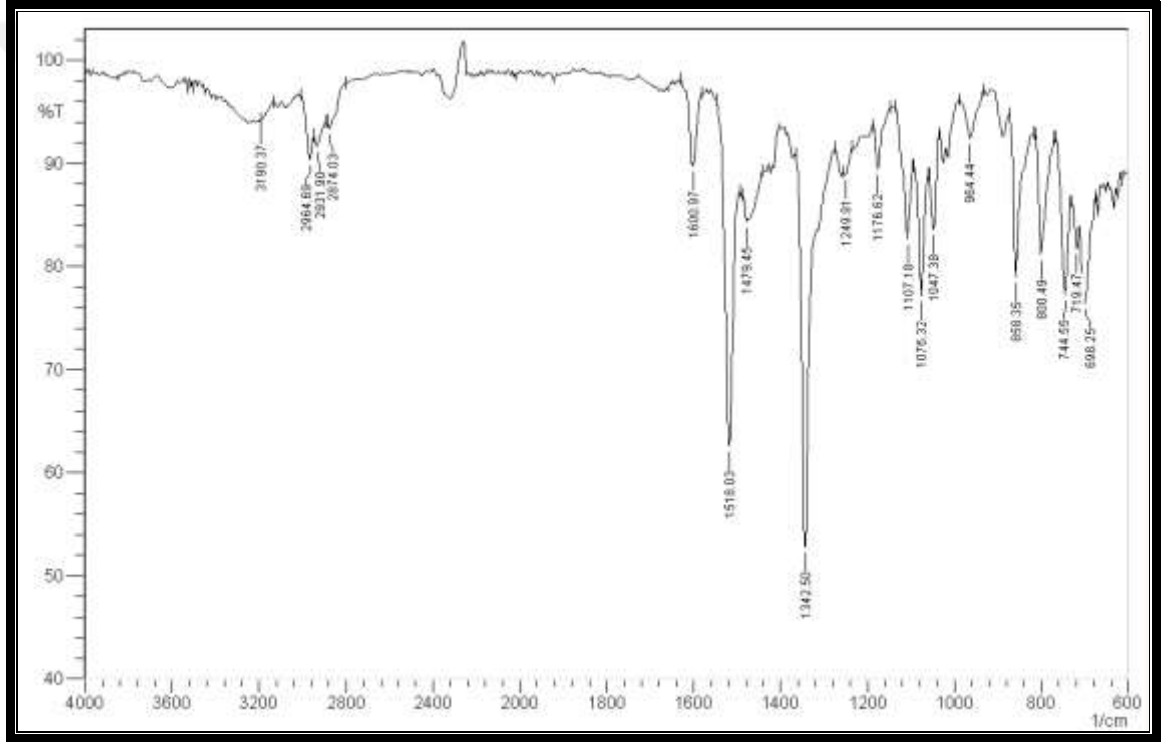
Verim (%)	: 46.4
R_f	: 0.35 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Koyu sarı renkte billur madde
Erime noktası	: 133.4 - 136.8 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO'da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₃ S. H ₂ O için M. A. 509.60 g/mol

Hesaplanan (%)	C:61.28	H: 6.13	N:13.74	S: 6.29
Bulunan (%)	C: 61.24	H: 5.39	N: 13.54	S: 5.40

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

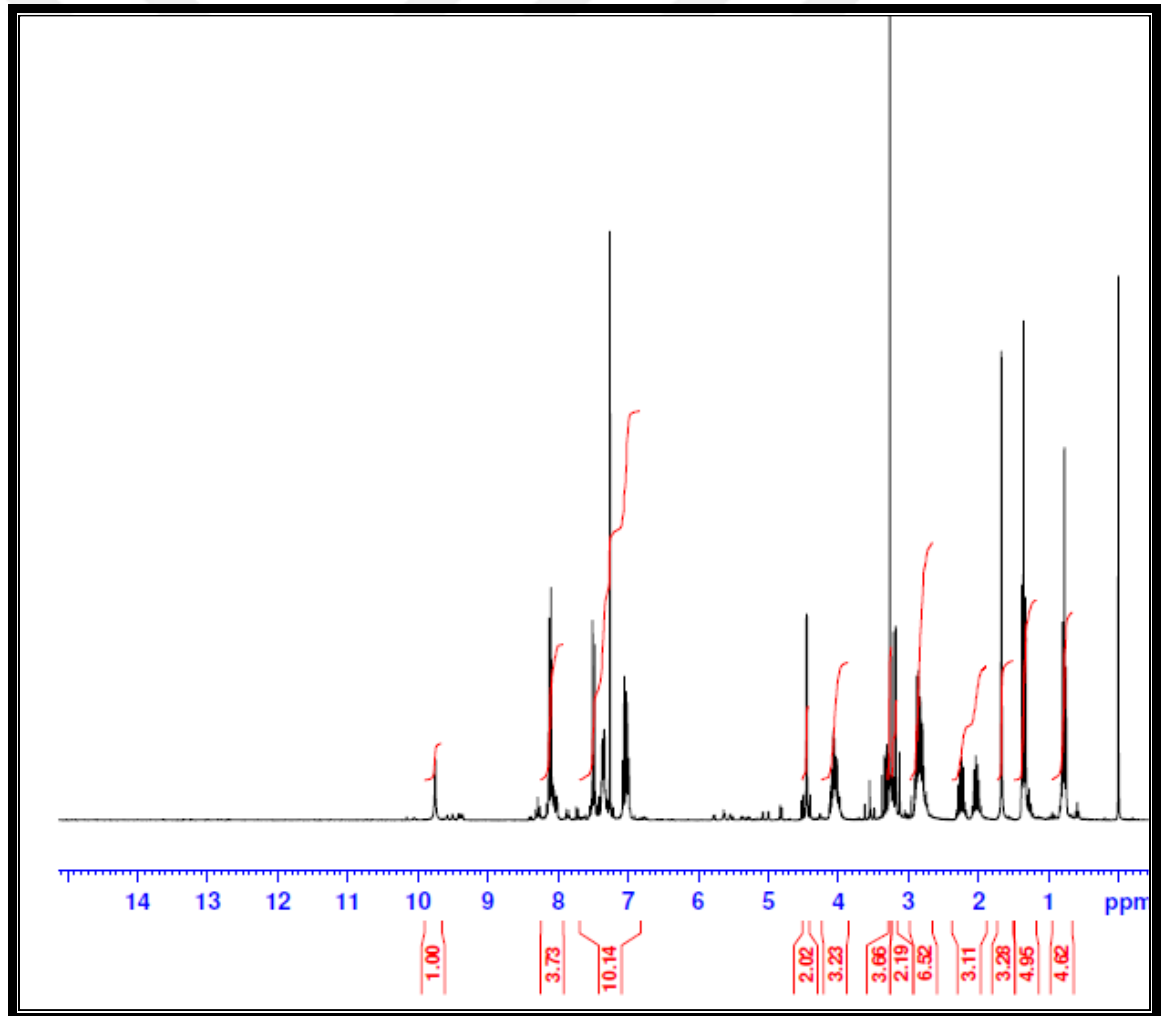
ν_{maks} (cm^{-1}): 3600 (O-H g.b.); 3190 (indol N-H g.b.); 3050 (aromatik C-H g.b.); 2965, 2932 (alifatik asimetric C-H g.b.); 2874 (alifatik simetric C-H g.b.); 1600, 1518, 1479 (indol N-H g.b., triazol C=N g.b., aromatik C=C g.b, asimetric NO_2 g.b.); 1343 (- CH_3 grubu asimetric ve simetric C-H e.b., simetric NO_2 g.b.); 1250 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 745, 719 (p-sübstitüe benzen); 698 (C-S e.b.) (**Şekil 21**).



Şekil 21. Bileşik 5g IR Spektrumu

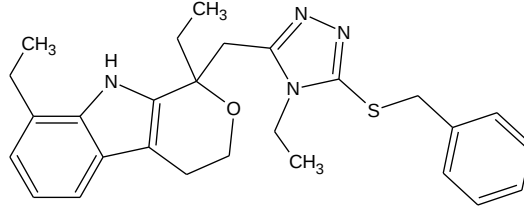
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.31 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.67 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 1.99 – 2.29 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.78 – 2.90 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂ -CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.12 – 3.31 (m, 5H, 4 konumdaki -CH₂- ve -N-CH₃); 3.97 – 4.12 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.5 (dd, 2H, J=15 Hz, J=12 Hz, S-CH₂); 6.99 – 7.36 (m, 3H, Ar-H); 8.11 (d, 2H, Ar-NO₂, orto konumundaki protonlar, J=8.7 Hz); 7.49 (d, 2H, Ar-NO₂, para konumundaki protonlar, J=8.7 Hz); 9.75 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 22).



Şekil 22. Bileşik 5g ¹H-NMR Spektrumu

1-{{[5-Benzilsulfanil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5h]



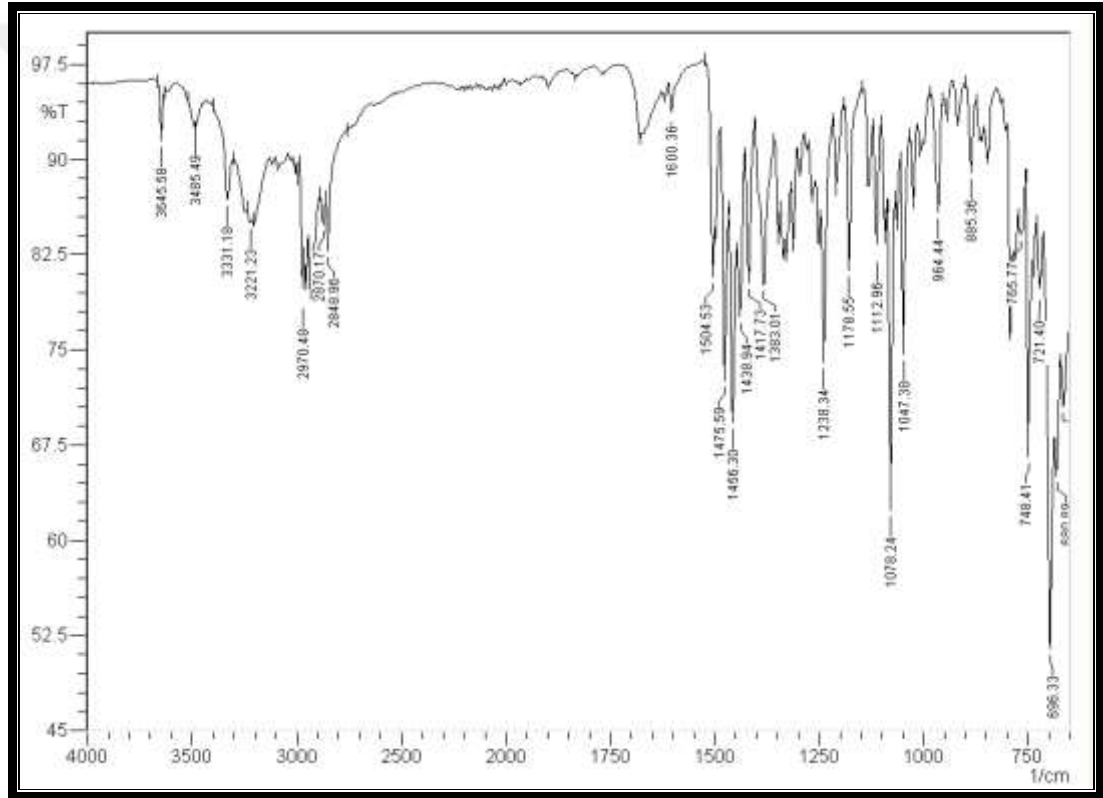
Verim (%)	: 54.8
R_f	: 0.26 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyazımsı renkte billur madde
Erime noktası	: 107.7 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₂ N ₄ OS. H ₂ O için M.A. 478.63 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 67.75	H: 7.16	N: 11.71	S: 6.70
Bulunan (%)	C: 67.73	H: 6.89	N: 11.91	S: 6.44

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

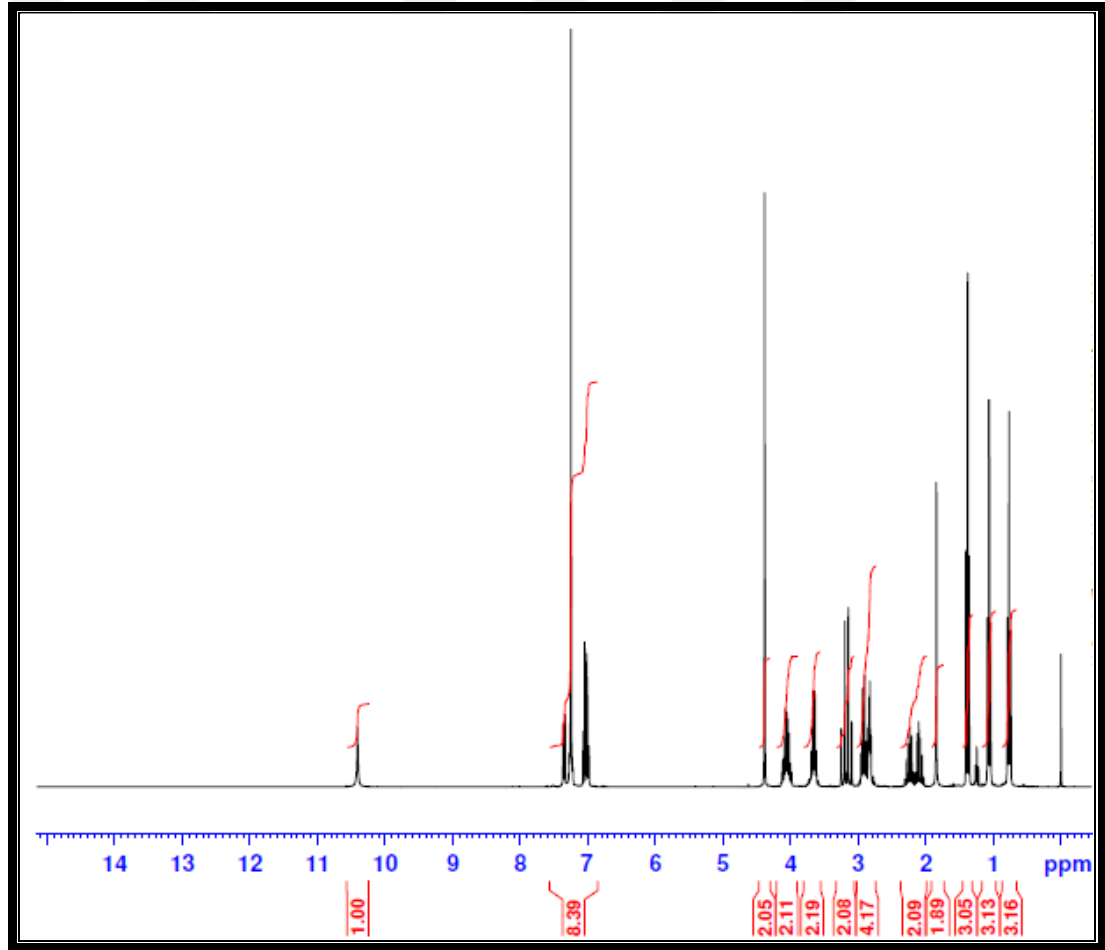
ν_{maks} (cm^{-1}): 3485 (molekölün tuttuğu su molekülünün O-H g.b.); 3221 (indol N-H g.b.); 2970, 2870 (alifatik asimetric ve simetric C-H g.b.); 1600, 1504, 1475, 1456, 1438 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1383 (asimetric ve simetric C-H e.b.); 1238 (C-S g.b.); 1078 (piran C-O g.b.); 748, 696 (mono süstitüe benzen); 680 (C-S e.b.) (Şekil 23).



Şekil 23. Bileşik 5h IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

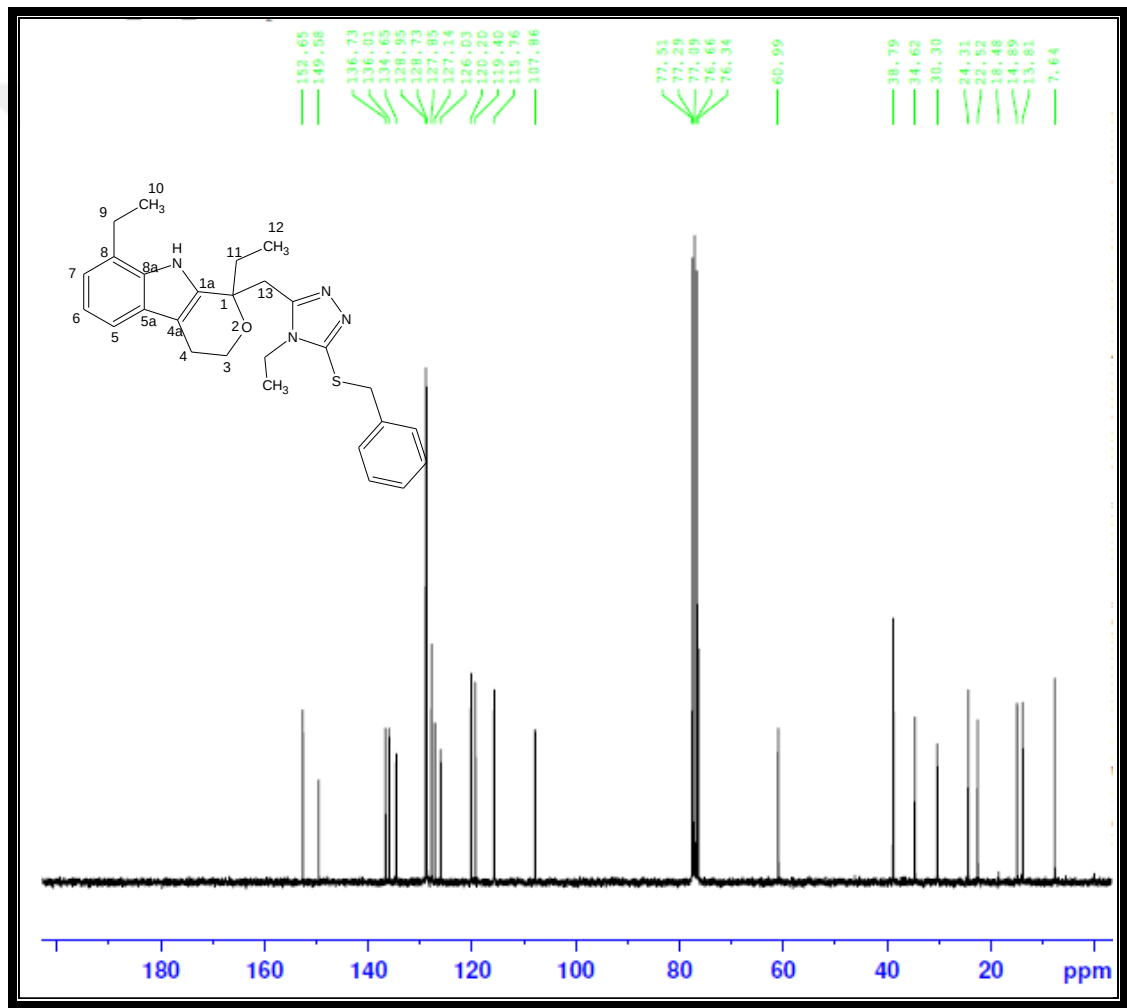
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.06 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.38 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.85 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.03 – 2.31 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.81 – 2.96 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.10 – 3.25 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.62 – 3.70 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 3.99 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.39 (s, 2H, S-CH₂); 6.99 – 7.37 (m, 8H, Ar-H ve CHCl₃); 10.41 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 24).



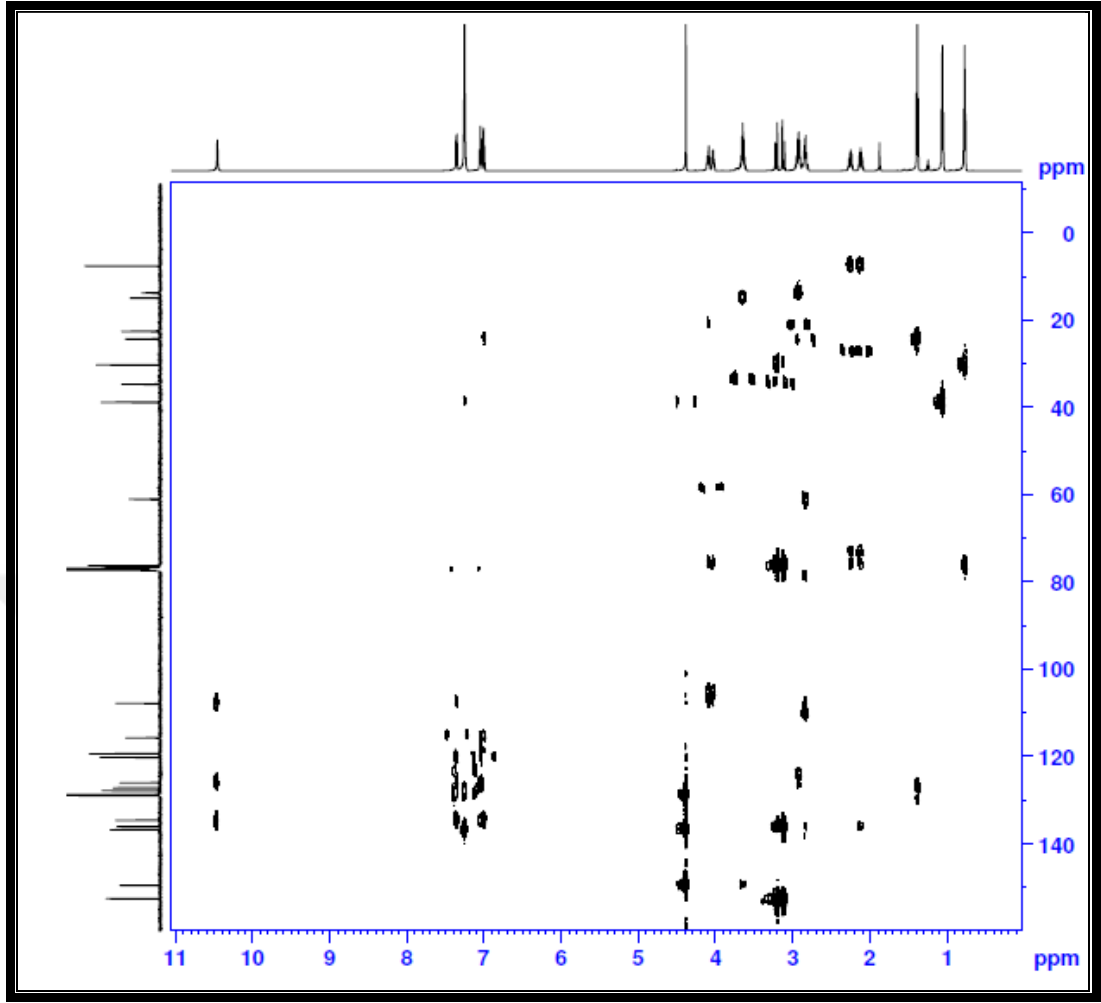
Şekil 24. Bileşik 5h ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu:

(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.64 (C-12); 13.81 (C-10); 14.89 (N-CH₂-CH₃); 18.48 (C-9); 22.52 (C-4); 24.31 (C-11); 30.30 (N-CH₂-CH₃); 34.62 (C-13); 38.79 (S-CH₂); 60.99 (C-3); 76.34 (C-1); 76.66, 77.09, 77.29, 77.51 (çözücü pikleri); 107.86 (C-4a); 115.76 (C-6); 119.40 (C-5); 120.20 (C-7); 126.03 (C-5a); 127.14 (C-2' ve C-6'); 127.85 (C-4'); 128.73 (C-3' ve C-5'); 128.95 (C-8); 134.65 (C-1'); 136.01 (C-1a); 136.73 (C-8a); 149.58 (triazol C=N); 152.65 (=C-S) (Şekil 25).

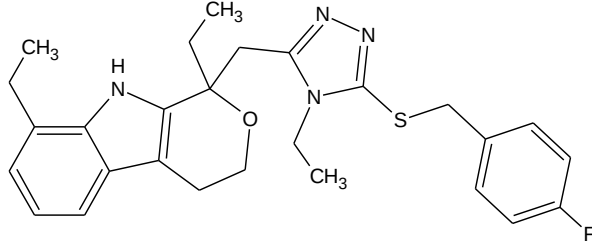


Şekil 25. Bileşik 5h ¹³C-NMR Spektrumu



Şekil 26. Bileşik 5h HMBC Spektrumu

1-{{5-(4-Fluorobenzil)sulfanil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5i]



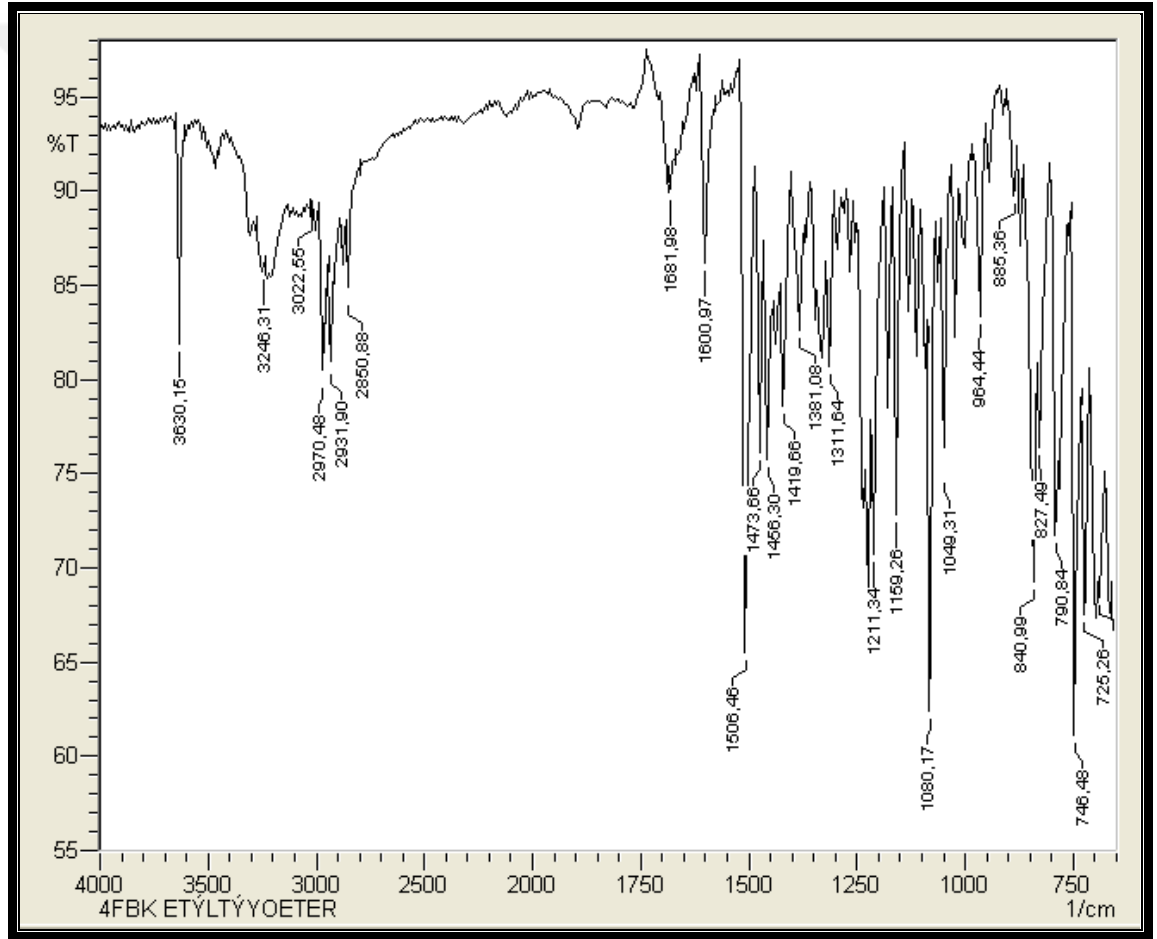
Verim (%)	: 63.8
R_f	: 0.47 (Petrol eteri: Aseton 50:50 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte billur madde.
Erime noktası	: 90.0 – 92.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₁ FN ₄ OS.H ₂ O için M.A. 496.64 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 65.30	H: 6.70	N: 11.28	S: 6.46
Bulunan (%)	C: 65.10	H: 6.58	N: 10.94	S: 6.30

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

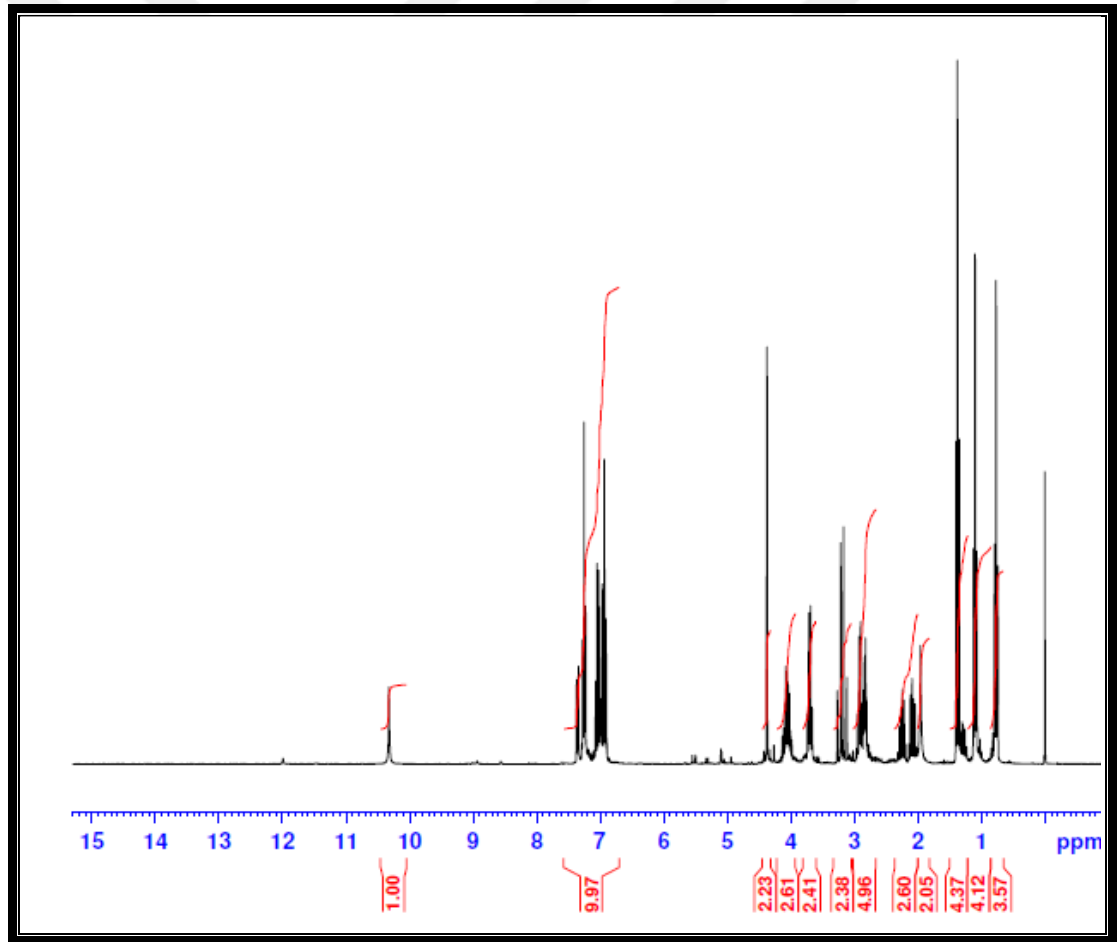
ν_{maks} (cm^{-1}): 3630 (OH g.b.); 3246 (indol N-H g.b.); 3022 (aromatik C-H g.b.) 2970, 2931 (alifatik asimetric C-H g.b.); 2850 (alifatik simetric C-H g.b.); 1600, 1506, 1473, 1456 (indol N-H e.b., C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1381, 1311 (asimetric ve simetric C-H e.b.); 1211 (C-S g.b.); 1080 (piran C-O g.b.); 790, 746 (monosubstitue benzen); 680 (C-S e.b.) (Şekil 27).



Şekil 27. Bileşik 5i IR Spektrumu

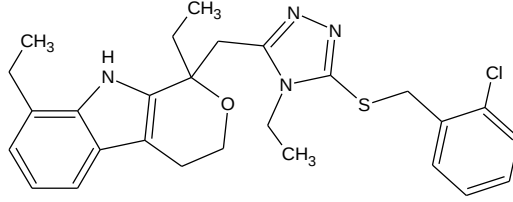
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.10 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.96 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.05 – 2.29 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.81 – 2.95 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.16 – 3.27 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.67 – 3.74 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 3.99 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.37 (s, 2H, S-CH₂); 6.94 – 7.37 (m, 8H, Ar-H ve CHCl₃); 10.31 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 28).



Şekil 28. Bileşik 5i ¹H-NMR Spektrumu

1-{{[5-(2-Klorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5j]



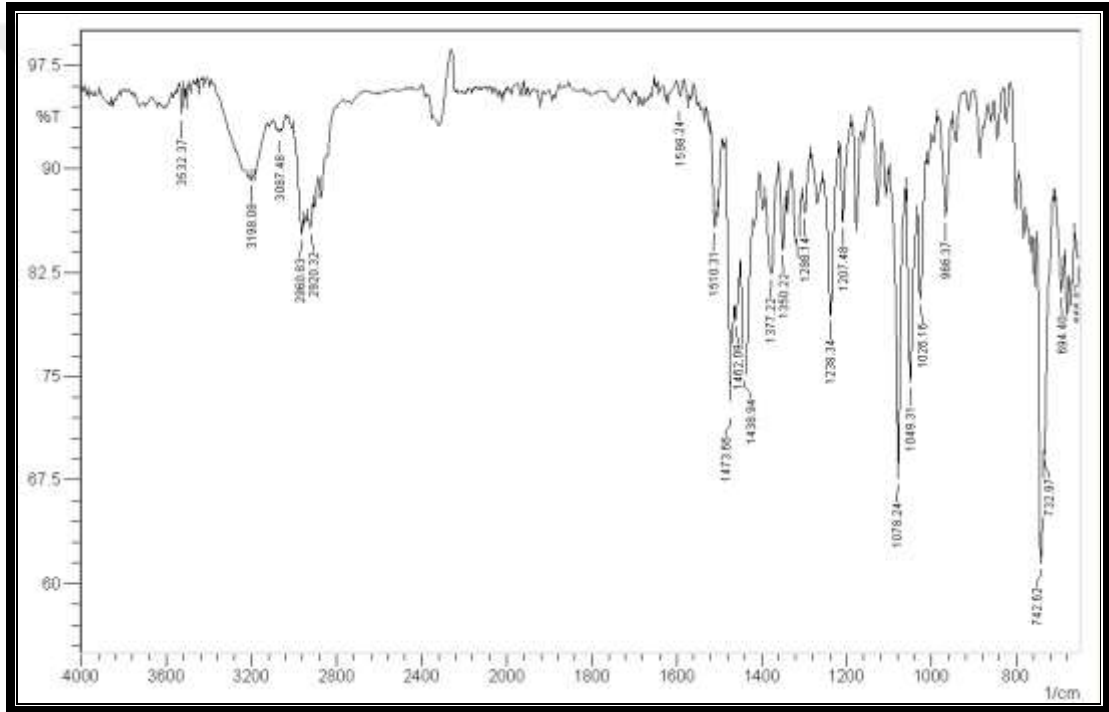
Verim (%)	: 56.8
R_f	: 0.47 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	:Beyaz renkte billur madde
Erime noktası	: 107.7 - 109.4 °C
Çözünürlük	: Asetonda, kloroformda ve DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₁ ClN ₄ OS. ½ H ₂ O için M.A. 504.07 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 64.33	H: 6.40	N: 11.11	S: 6.36
Bulunan (%)	C: 64.71	H: 6.25	N: 11.00	S: 6.11

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

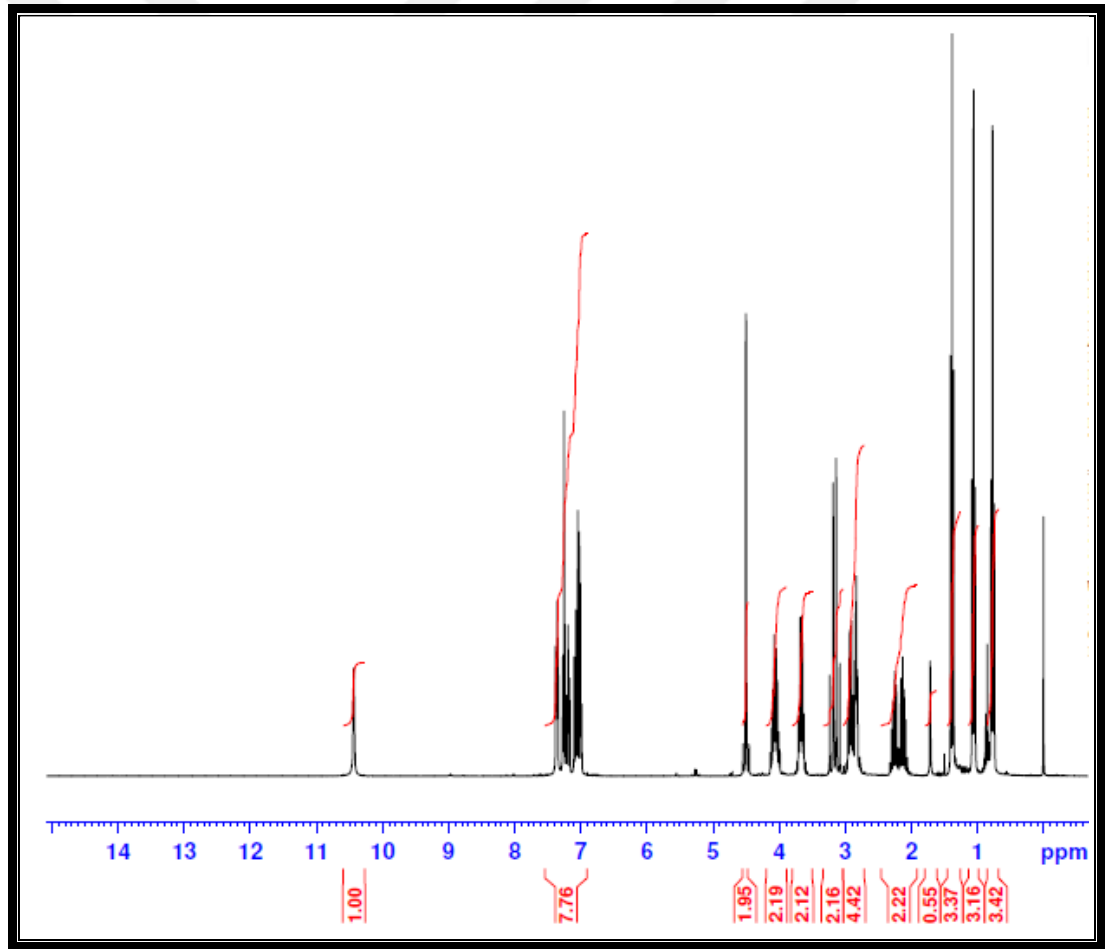
ν_{maks} (cm^{-1}): 3532 (molekölün tuttuğu su molekülün O-H g.b.); 3198 (indol N-H g.b.); 3087 (Aromatik C-H g.b.), 2961, 2920 (Alifatik asim. ve sim. C-H g.b.); 1598, 1510, 1474, 1438 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1377, 1350 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1238 (C-S g.b.); 1078 (piran C-O g.b.); 743, 694 (o-süstitüe benzen); 665 (C-S e.b.) (Şekil 29).



Şekil 29. Bileşik 5j IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

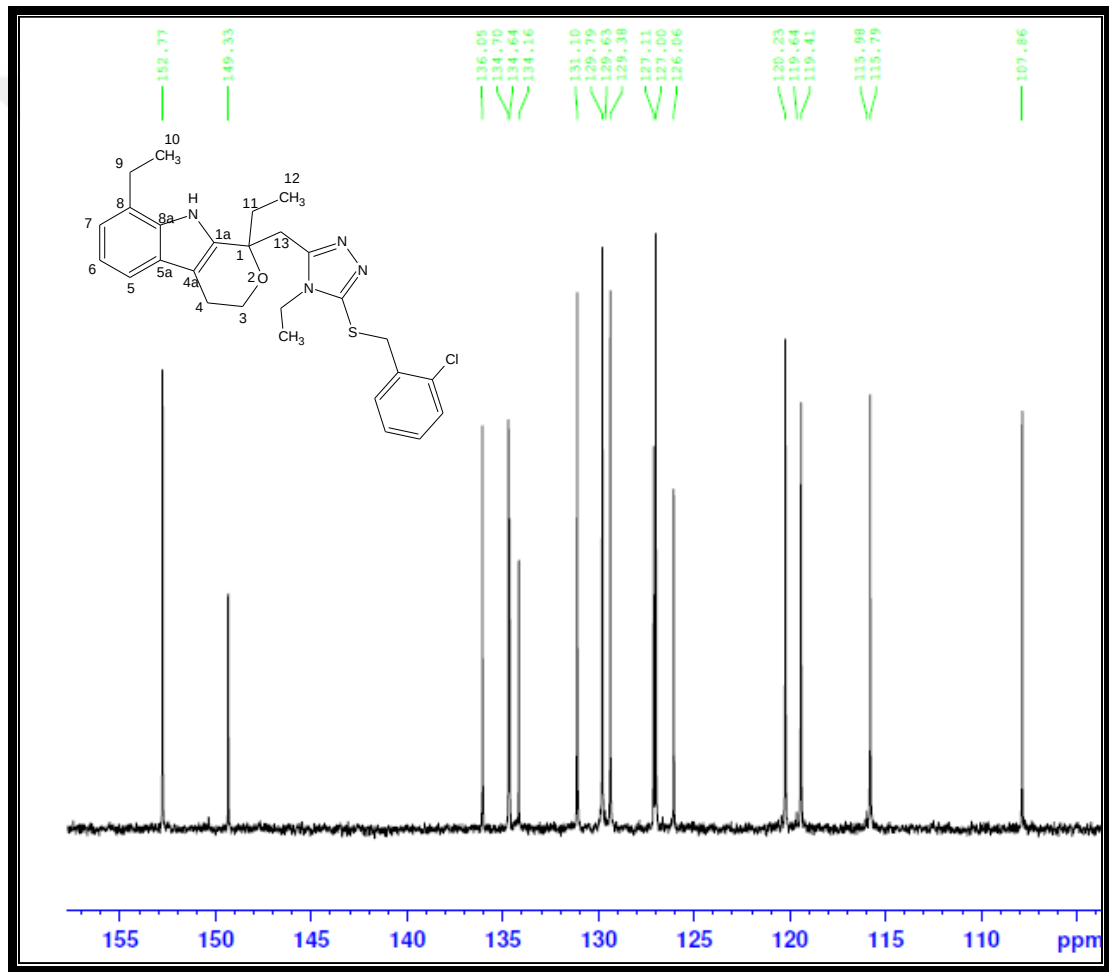
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.06 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.38 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.71 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.08 – 2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.81 – 2.96 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.08 – 3.29 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.63 – 3.71 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 3.99 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.50 (dd, 2H, J=15 Hz, J=15 Hz, S-CH₂); 7.07 – 7.38 (m, 7H, Ar-H); 10.44 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 30).



Şekil 30. Bileşik 5j ¹H-NMR Spektrumu

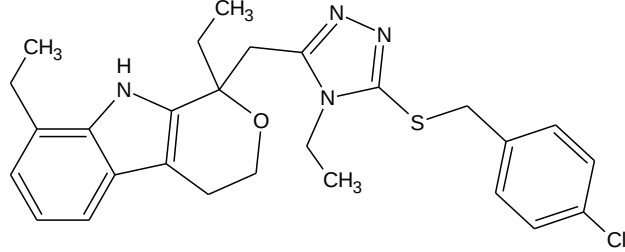
¹³C-NMR Spektrumu:

(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.67 (C-12); 13.84 (C-10); 14.92 (N-CH₂-CH₃); 22.55 (C-9); 24.36 (C-4); 30.29 (C-11); 34.66 (N-CH₂-CH₃); 36.55 (C-13); 38.83 (S-CH₂); 61.01 (C-3); 76.29 (C-1); 76.70, 77.13, 77.33, 77.55 (çözücü pikleri); 107.86 (C-4a); 115.79 (C-6); 119.41 (C-5); 120.23 (C-7); 126.06 (C-5a); 127.00 (C-2' ve C-6'); 127.11 (C-4'); 129.38 (C-3' ve C-5'); 129.79 (C-8); 131.10 (C-1'); 134.16 (C-1a); 134.67 (C-8a); 149.33 (triazol C=N); 152.77 (=C-S) (Şekil 31).



Şekil 31. Bileşik 5j ¹³C-NMR Spektrumu

1-{{5-(4-Klorobenzil)sulfanil}-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5k]



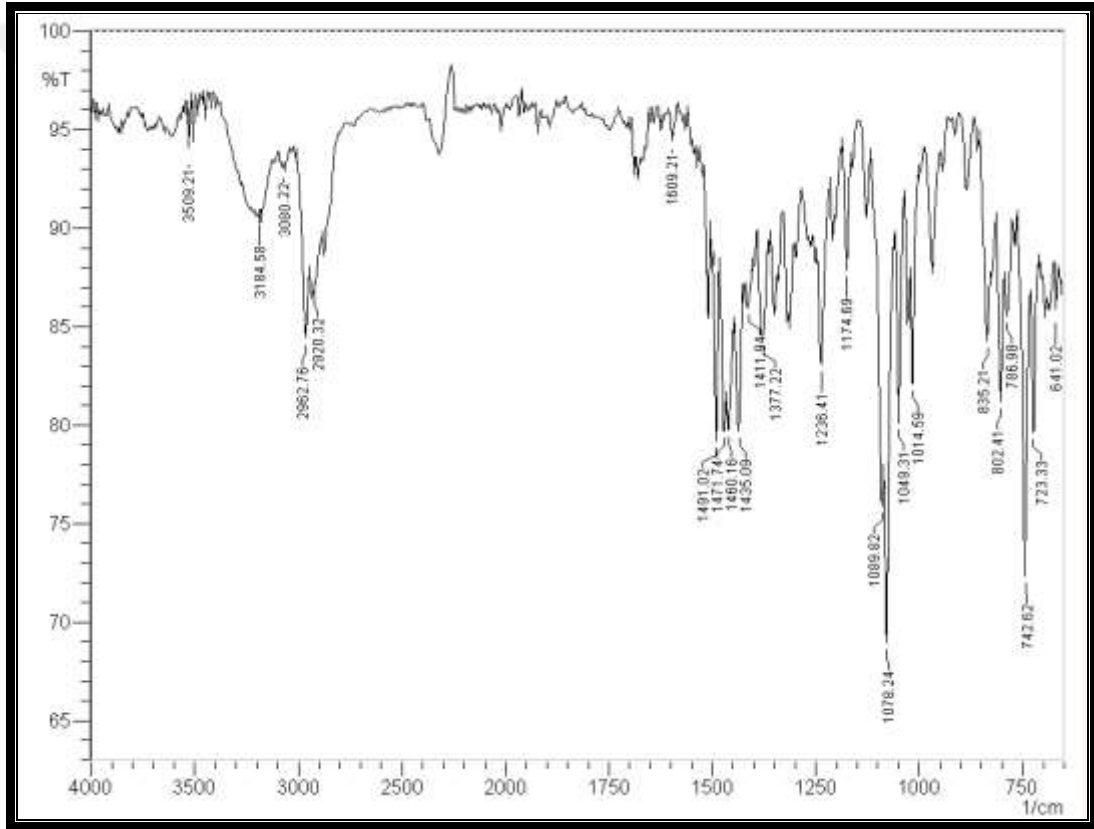
Verim (%)	: 51.5
R_f	: 0.41 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte billur madde.
Erime noktası	: 184.9 - 185.8 °C
Çözünürlük	: Asetonda, kloroformda ve DMSO'da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₁ ClN ₄ OS. ½ H ₂ O için M.A. 504.07 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 64.33	H: 6.40	N: 11.11	S: 6.36
Bulunan (%)	C: 64.10	H: 6.14	N: 10.89	S: 5.60

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

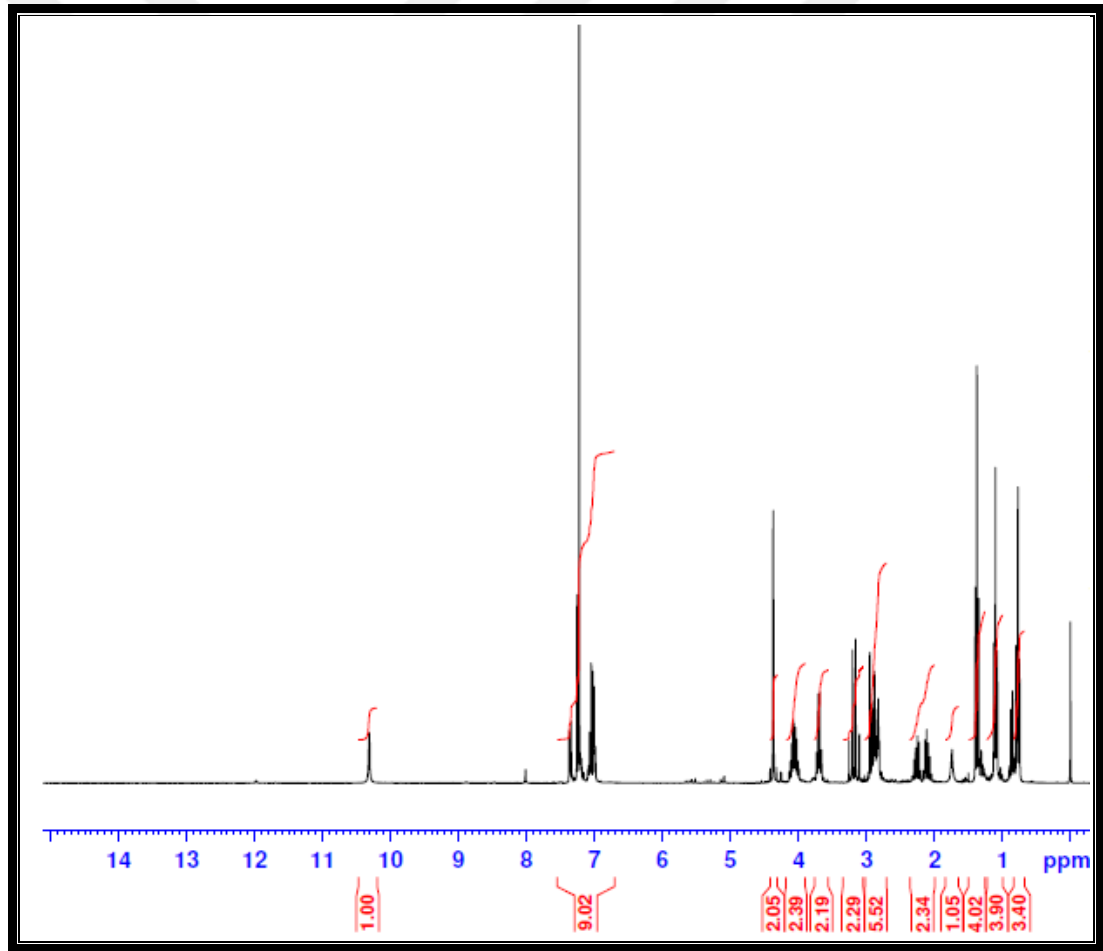
ν_{maks} (cm^{-1}): 3509 (molekölün tuttuğu su molekölün O-H g.b.); 3185 (indol N-H g.b.); 3080 (aromatik C-H g.b.); 2962, 2920 (alifatik asimetrik C-H g.b.); 1609, 1491, 1471, 1435 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1411, 1377 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1236 (C-S g.b.); 1078 (piran C-O g.b.); 742, 723 (p-süstitüe benzen); 641 (C-S e.b.) (Şekil 32).



Şekil 32. Bileşik 5k IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

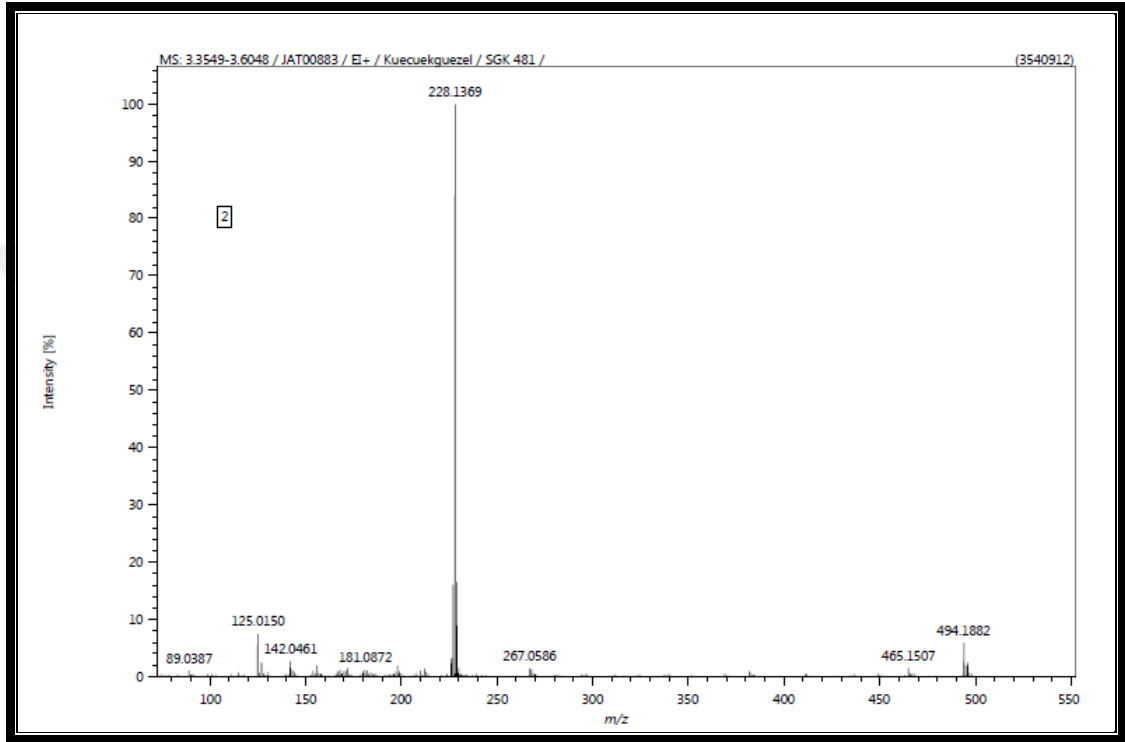
(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.10 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.74 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.07 – 2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.83 – 2.95 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.11 – 3.26 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.66 – 3.74 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 3.99 – 4.12 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.36 (dd, 2H, J=15 Hz, J=15 Hz, S-CH₂); 6.99 – 7.37 (m, 8H, Ar-H ve CHCl₃); 10.32 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 33).



Şekil 33. Bileşik 5k ¹H-NMR Spektrumu

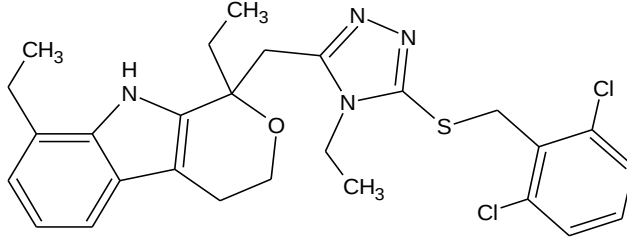
Kütle Spektrumu:

HR-MS [(EI⁺) , m/z (%): 496.1864 ([M+2]⁺, 2.98), 494.1882 ([M⁺], 7.24), 228.1369 (100.0), 227.1293 (16.29), 142.0461 (2.92), 125.0150 (7.05), 57.0333 (4.04) (Şekil 34).



Şekil 34. Bileşik 5k Kütle Spektrumu

1-[[5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5I]



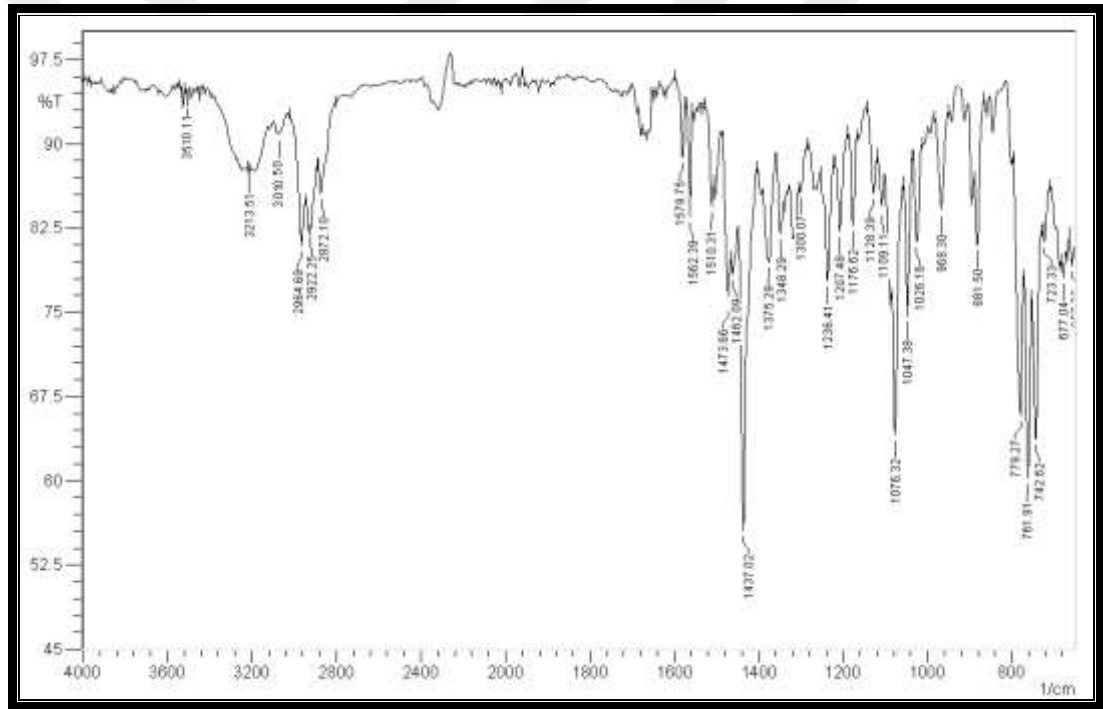
Verim (%)	: 42.2
R_f	: 0.25 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte billur madde.
Erime noktası	: 106 .0– 107.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, kloroformda ve DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₇ H ₃₀ Cl ₂ N ₄ OS. ½ H ₂ O için M.A. 538.52 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 60.22	H: 5.80	N:10.40	S: 5.95
Bulunan (%)	C: 59.44	H: 5.86	N: 9.91	S: 5.43

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

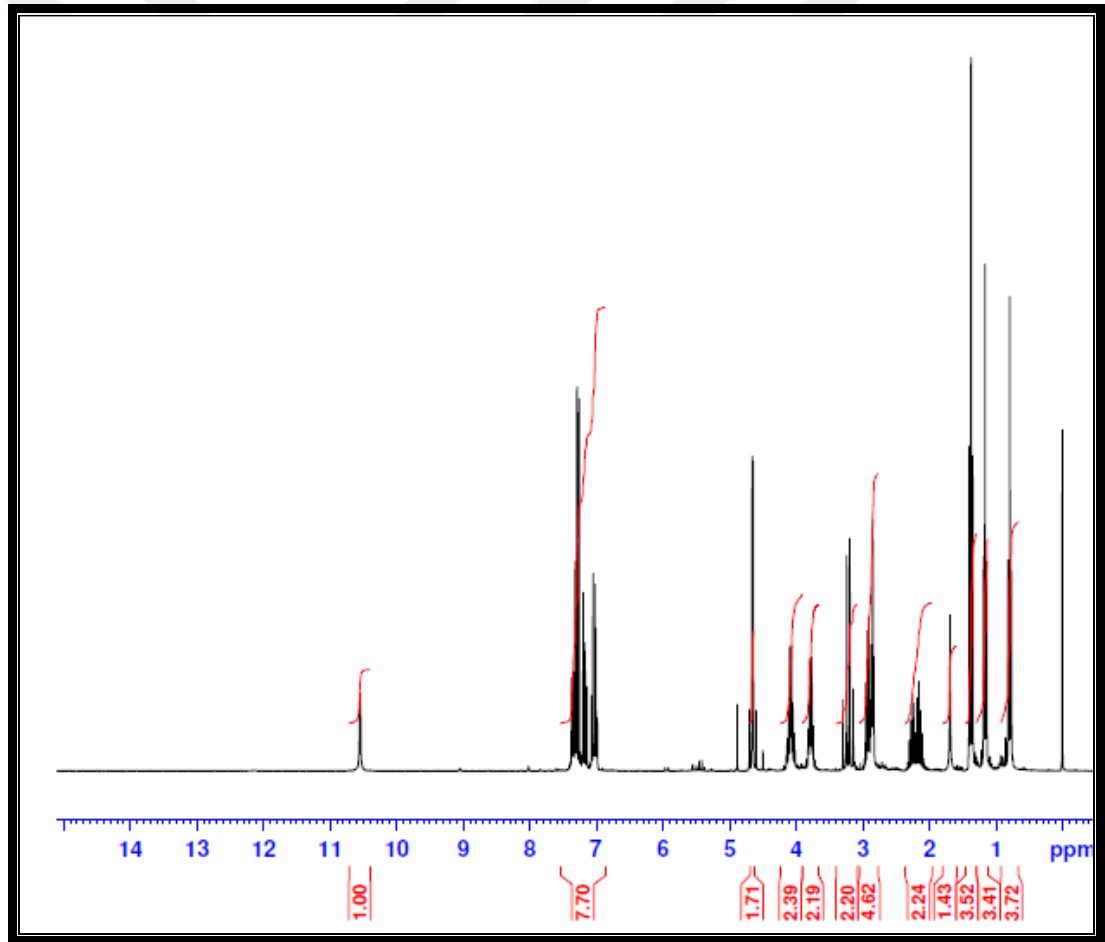
ν_{maks} (cm^{-1}): 3510 (molekölün tuttuğu su molekülün O-H g.b.); 3213 (indol N-H g.b.); 3011 (aromatik C-H g.b.), 2965, 2922 (alifatik asimetrik C-H g.b.); 2872 (alifatik simetrik C-H g.b.); 1579 (indol N-H e.b.) 1562, 1510, 1473, 1437 (aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1375, 1348 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1236 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 779, 762, 742, (süstitüe benzen); 677 (C-S e.b.) (Şekil 35).



Şekil 35. Bileşik 5I IR Spektrumu

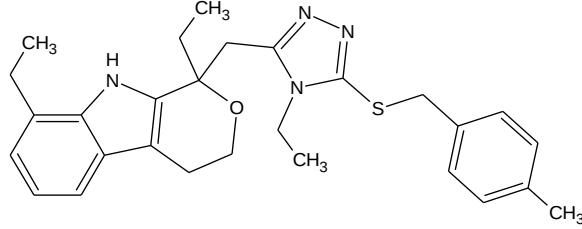
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.79 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.16 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.69 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.10 – 2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.87 – 2.95 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.14 – 3.29 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.74 – 3.82 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 4.03 – 4.13 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.65 (dd, 2H, J=12 Hz, J=12 Hz, S-CH₂); 7.01 – 7.37 (m, 6H, Ar-H); 10.55 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 36).



Şekil 36. Bileşik 5I ¹H-NMR Spektrumu

1-{{5-(4-Metilbenzil)sulfanil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5m]



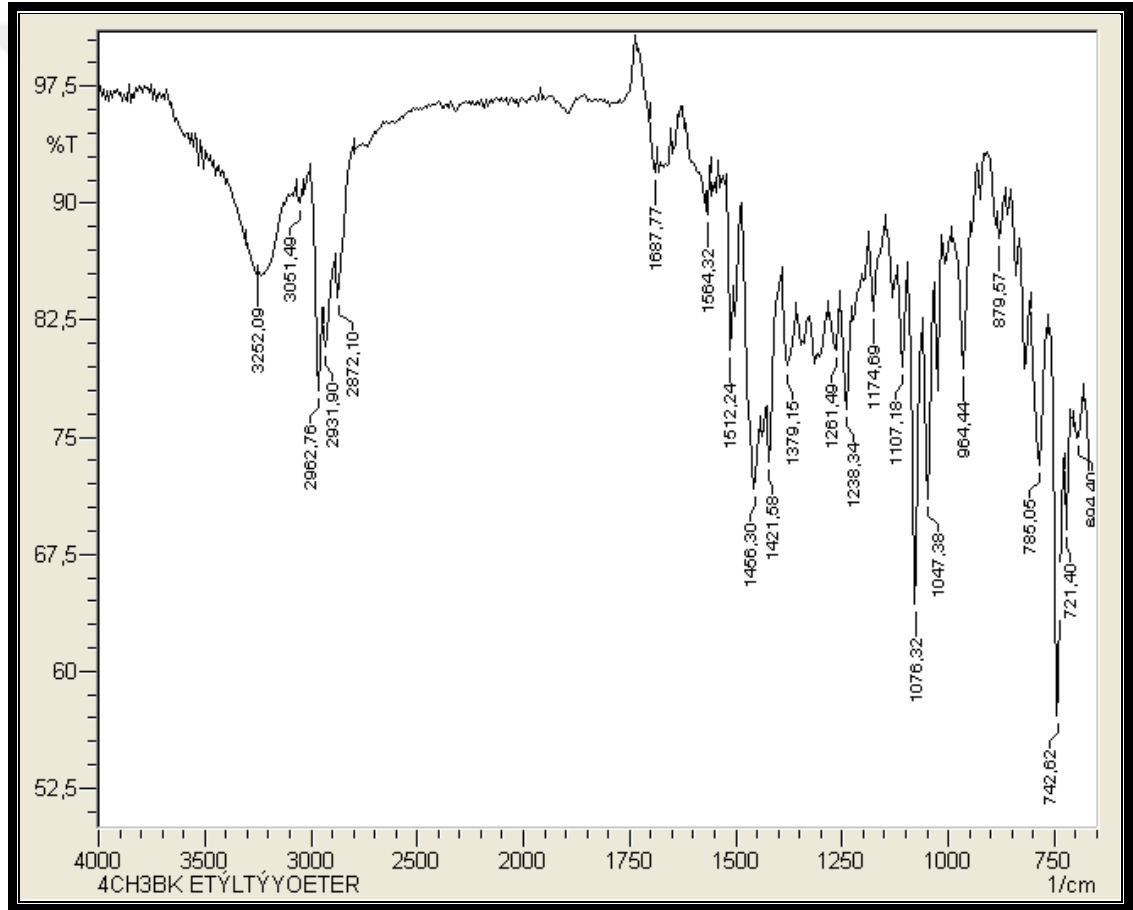
Verim (%)	: 76.5
R_f	: 0.96 (Petrol eteri:Aseton 50:50 (h/h), t:20 °C)
Görünüş	: Açık sarı renkte billur madde.
Erime noktası	: 80.0 – 81.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₂₈ H ₃₄ N ₄ OS.2H ₂ O için M.A. 510.69 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 65.85	H: 7.50	N: 10.97	S: 6.28
Bulunan (%)	C: 66.34	H: 7.07	N: 11.53	S: 6.39

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

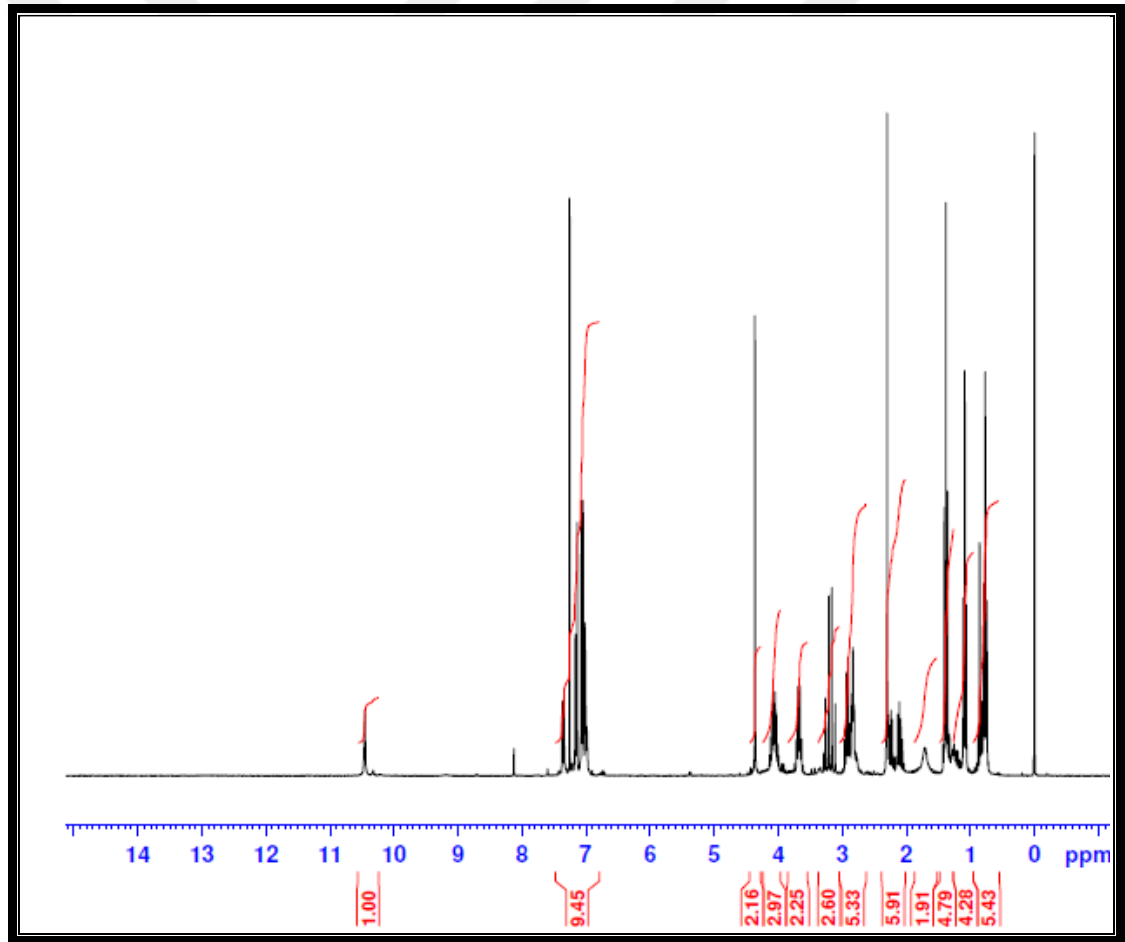
ν_{maks} (cm^{-1}): 3500 (OH g.b.); 3252 (indol N-H g.b.); 3051 (aromatik C-H g.b.) 2962, 2931 (alifatik asimetrik C-H g.b); 2872 (alifatik simetrik C-H g.b); 1564, 1512, 1458, 1421 (indol N-H e.b., C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1379 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1238 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 785, 742 (monosübstitüe benzen); 694 (C-S e.b.) (Şekil 37).



Şekil 37. Bileşik 5m IR Spektrumu

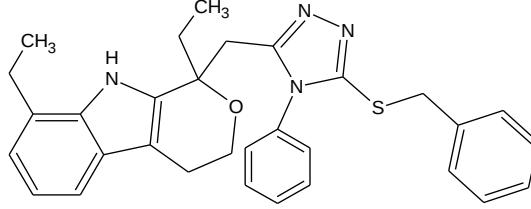
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.77 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.09 (t, 3H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 1.38 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.80 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.09 – 2.24 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.30 (Ar-CH₃); 2.82 – 2.96 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.11 – 3.27 (q, 2H, triazole bağlı -CH₂-CH₃); 3.64 – 3.72 (m, 2H, 4 konumdaki -CH₂-); 3.99 – 4.14 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂-); 4.36 (s, 2H, S-CH₂); 6.99 – 7.37 (m, 8H, Ar-H ve CHCl₃); 10.42 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 38).



Şekil 38. Bileşik 5m ¹H-NMR Spektrumu

1-[[5-Benzilsulfanil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5n]



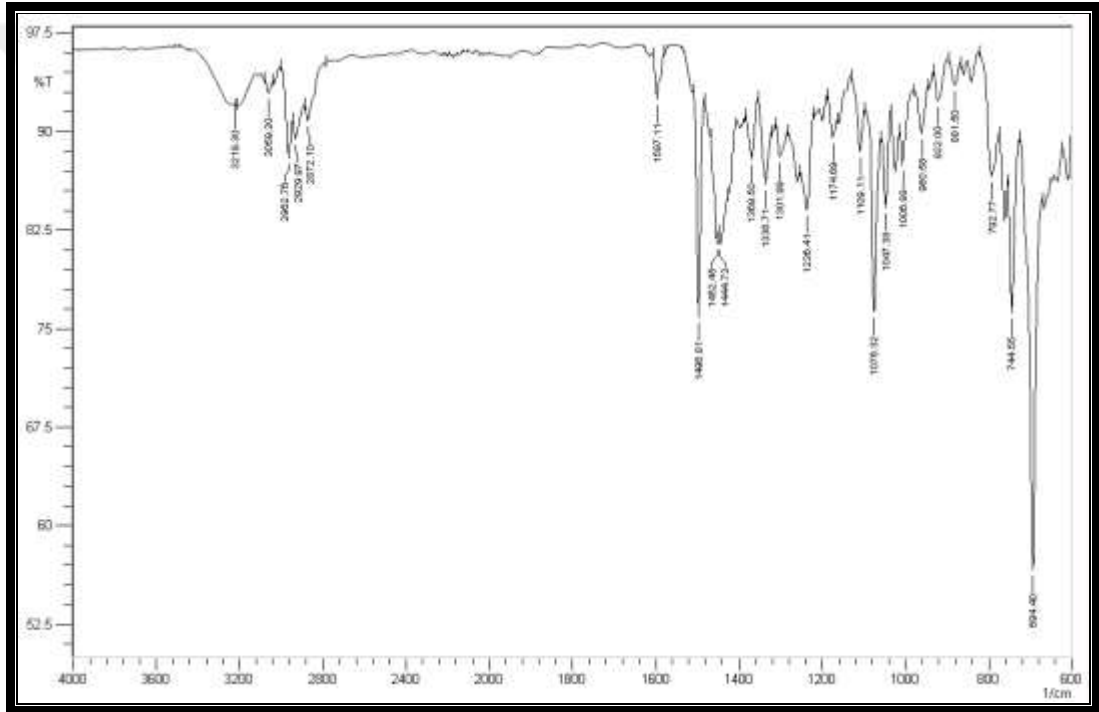
Verim (%)	: 87.5
R_f	: 0.14 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Açık sarı billur madde.
Erime noktası	: 120.0 – 122.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, kloroformda ve DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₃₁ H ₃₂ N ₄ OS. ½ H ₂ O için M.A. 517.68462 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 71.92	H: 6.43	N: 10.82	S: 6.19
Bulunan (%)	C: 71.78	H: 6.43	N: 10.60	S: 5.94

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

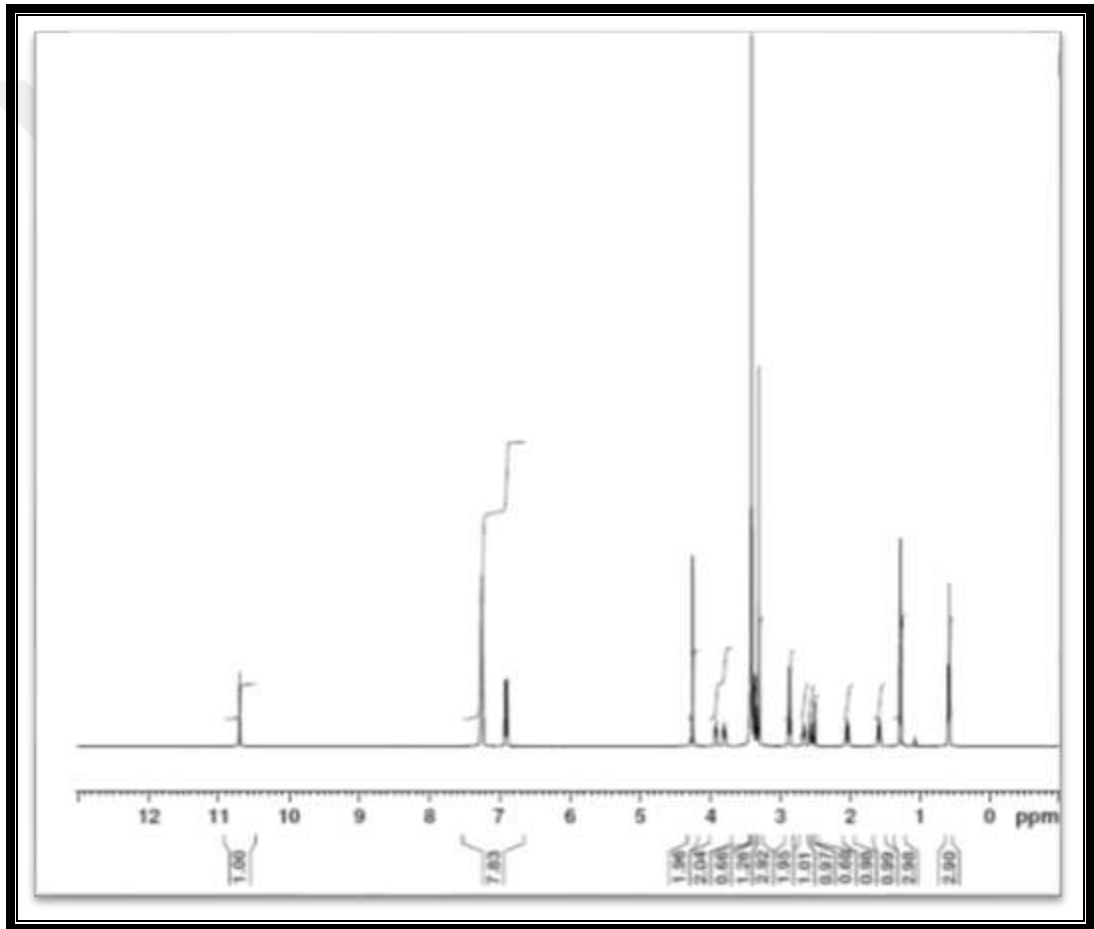
ν_{maks} (cm^{-1}): 3219 (İndol N-H g.b.); 3059 (aromatik C-H g.b.) 2962, 2929 (alifatik asimetrik C-H g.b); 2872 (alifatik simetrik C-H g.b); 1597, 1496, 1452, 1444 (indol N-H e.b., C=N g.b., aromatik C=C g.b.); 1369, 1336 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1236 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 765, 747 (monosüstitüe benzen); 694 (C-S e.b.) (Şekil 39).



Şekil 39. Bileşik 5n IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

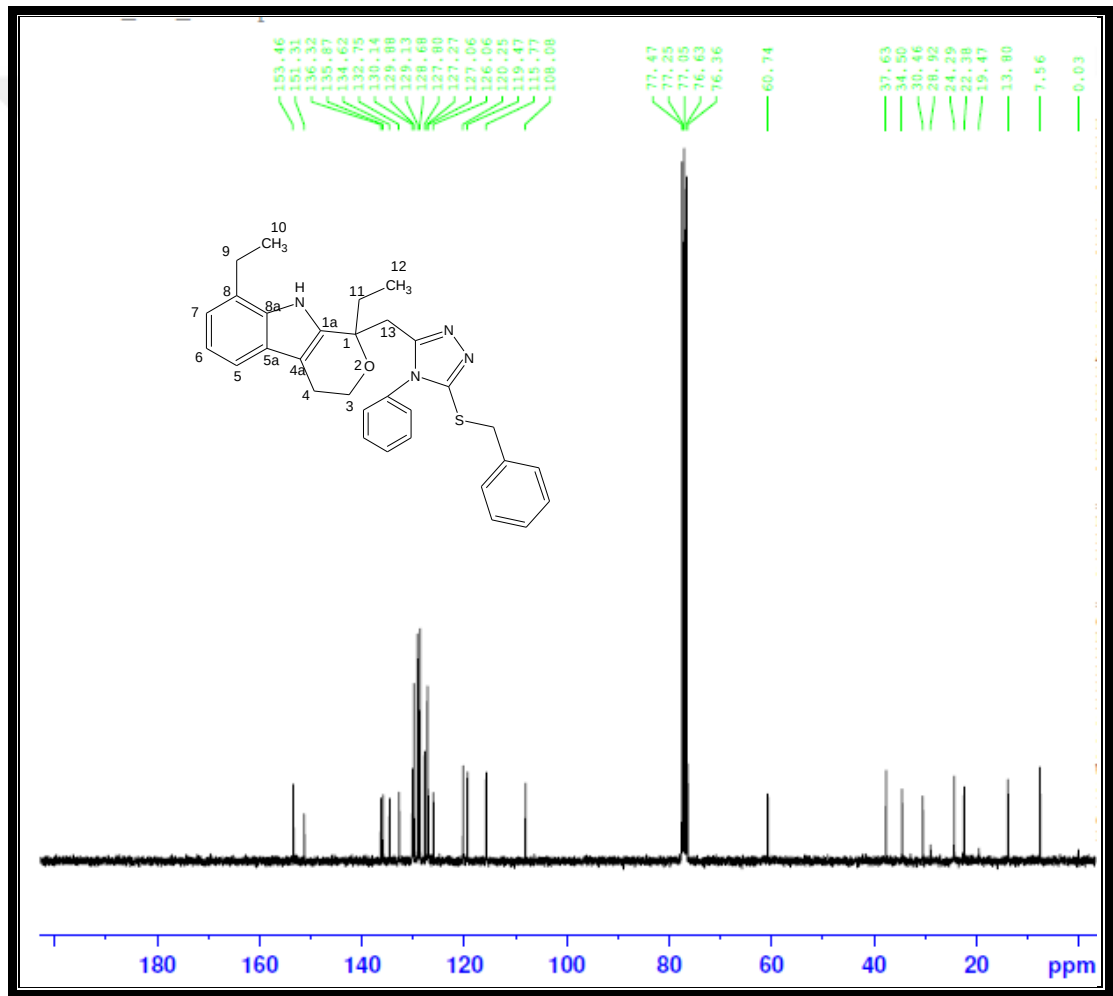
(600 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.71 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.41 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.10-2.30 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.65 – 2.98 (m, 4H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃ ve 1 no.lu konumdaki -CH₂-); 3.30 – 3.93 (m, 4H, 4 konumdaki -CH₂- ve 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.41 (dd, 2H, J=12.6 Hz, J=12.6 Hz, S-CH₂); 7.01 – 7.46 (m, 13H, Ar-H); 10.11 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 40).



Şekil 40. Bileşik 5n ¹H-NMR Spektrumu

¹³C-NMR Spektrumu :

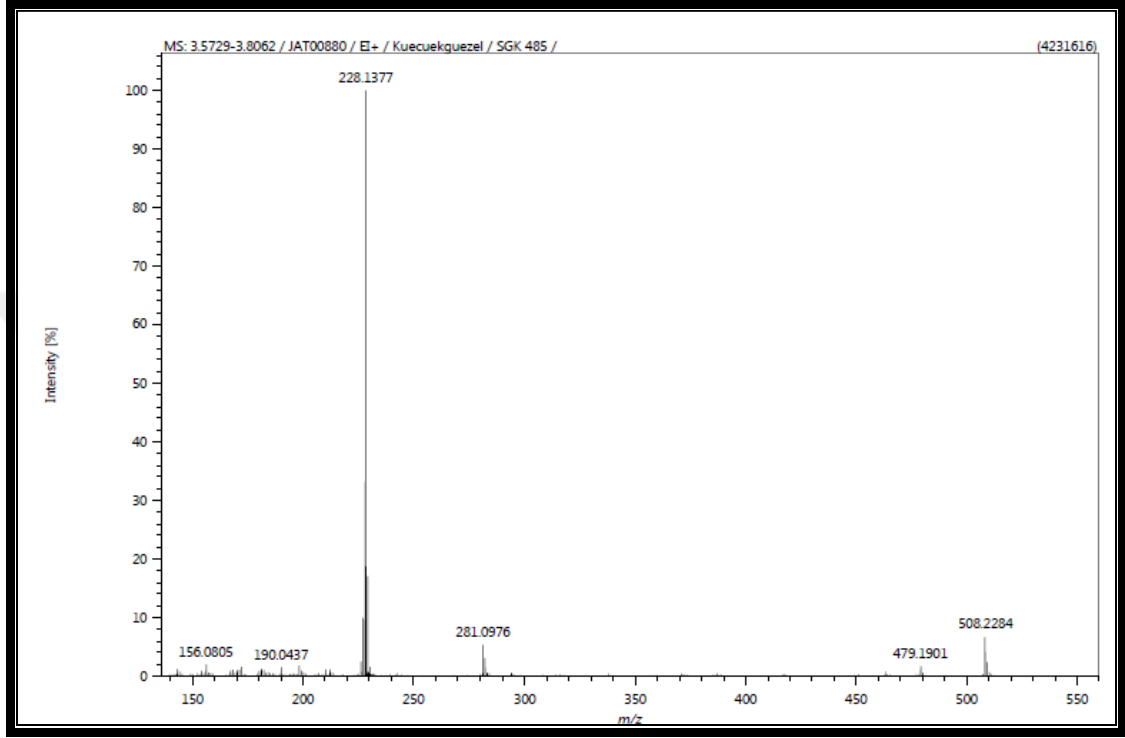
(75 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 7.56 (C-12); 13.80 (C-10); 22.38 (C-9); 24.29 (C-4); 30.46 (C-11); 34.50 (C-13); 37.63 (S-CH₂); 60.74 (C-3); 76.36 (C-1); 76.63, 77.05, 77.25, 77.47 (çözücü pikleri); 108.08 (C-4a); 115.77 (C-6); 119.47 (C-5); 120.25 (C-7); 126.06 (C-5a); 127.06, 127.2, 127.80, 128.68 (C-2' ve C-6'); 129.13, 129.88 (C-4'); 130.14 (C-3' ve C-5'); 132.75 (C-8); 134.62 (C-1'); 135.87 (C-1a); 136.32 (C-8a); 151.31 (triazol C=N); 153.46 (=C-S) (Şekil 41).



Şekil 41. Bileşik 5n ¹³C-NMR Spektrumu

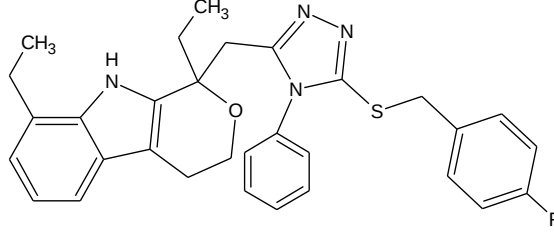
Kütle Spektrumu:

HR-MS [(EI+), m/z (%): 508.2284 ($[M^+]$, 7.81), 281.0976 (5.50), 229.1413 (16.90), 228.1377 (100.0), 227.1300 (9.88), 91.0543 (8.00), 57.0335 (3.96) (Şekil 42).



Şekil 42. Bileşik 5n Kütle Spektrumu

1-{{[5-(4-Fluorobenzil)sulfanil]-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5p]



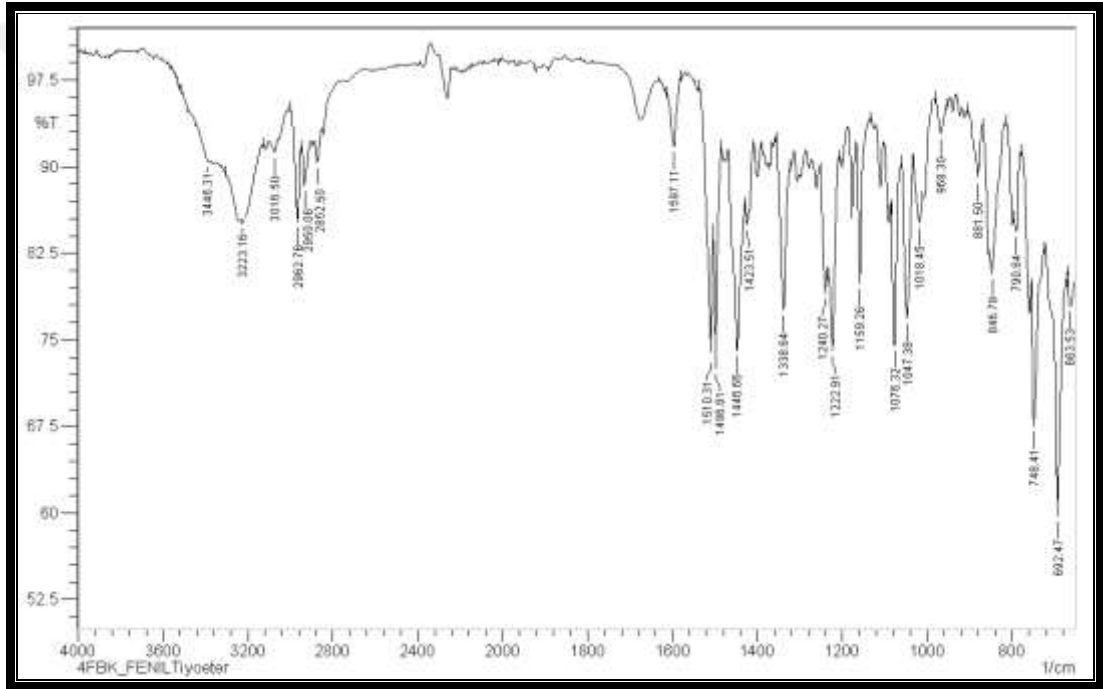
Verim (%)	: 56.8
R_f	: 0.34 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Açık sarı renkte billur madde
Erime noktası	: 98.1 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₃₁ H ₃₁ FN ₄ OS.2 H ₂ O için M.A. 562.67 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 66.17	H: 6.27	N: 9.96	S: 5.70
Bulunan (%)	C: 66.11	H: 6.23	N: 10.03	S: 5.47

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

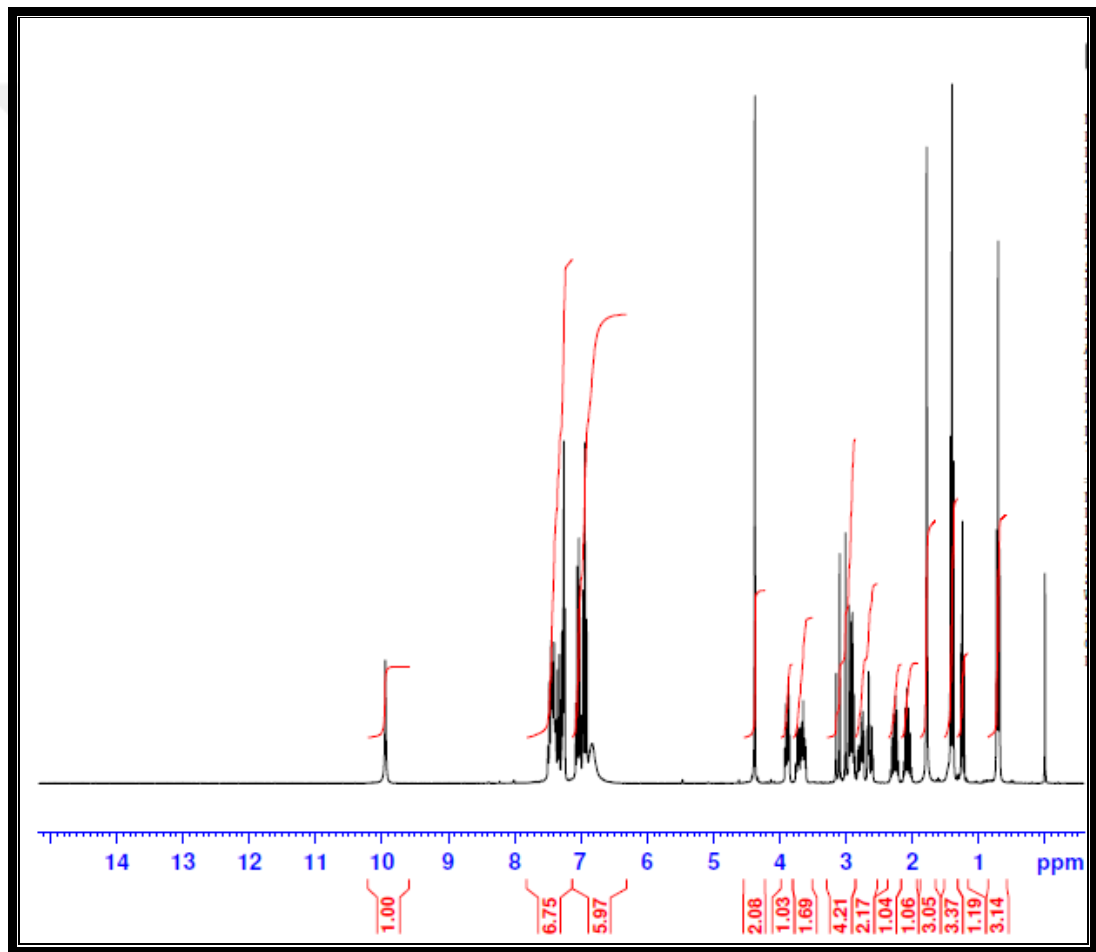
ν_{maks} (cm^{-1}): 3446 (molekölün tuttuğu su molekülün O-H g.b.); 3223 (indol N-H g.b.); 3016 (aromatik C-H g.b.) 2962, 2950 (alifatik-CH₃ grubu asimetrik C-H g.b.); 2853 (alifatik simetrik C-H g.b.); 1597 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1338 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1223 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 748, 692 (p-süstitüe benzen); 664 (C-S e.b.) (**Şekil 43**).



Şekil 43. Bileşik 5p IR Spektrumu

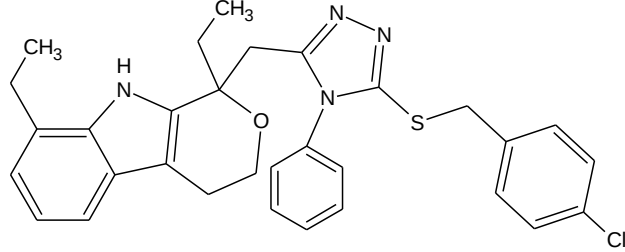
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.71 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.40 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.78 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.01 - 2.31 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.59 – 3.15 (m, 6H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃, 1 no.lu konumdaki -CH₂ ve 4 konumdaki -CH₂-); 3.61 – 3.99 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.38 (s, 2H, S-CH₂); 6.92 – 7.50 (m, 12H, Ar-H); 9.95 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 44).



Şekil 44. Bileşik 5p ¹H-NMR Spektrumu

1-{{5-(4-Klorobenzil)sulfanil}-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5r]

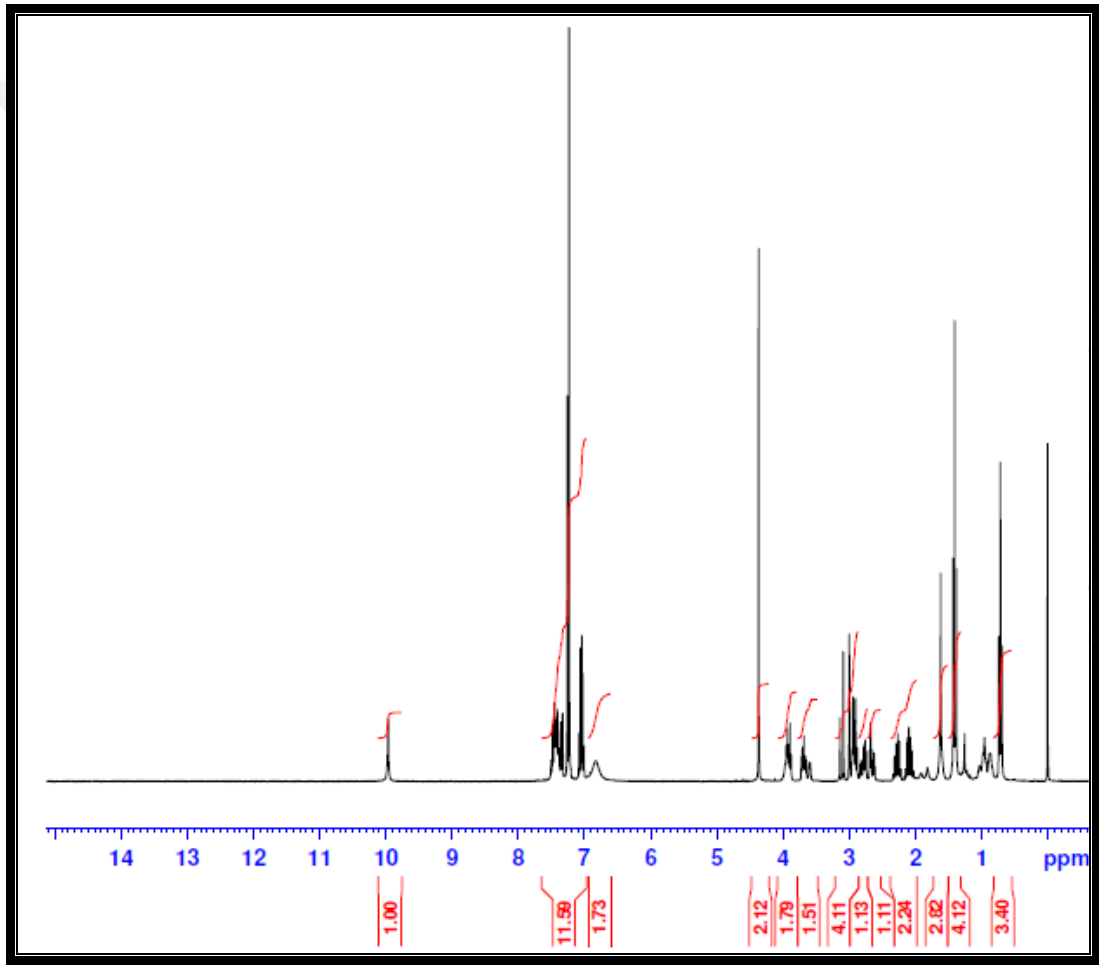


Verim (%)	: 68.2
R_f	: 0.37 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Beyaz renkte billur madde
Erime noktası	: 100.0 – 102.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, kloroformda ve DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₃₁ H ₃₁ ClN ₄ OS.CH ₃ CH ₂ OH için M.A. 589.19 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 67.27	H: 6.33	N: 9.51	S: 5.44
Bulunan (%)	C: 67.26	H: 5.74	N: 9.06	S: 4.88

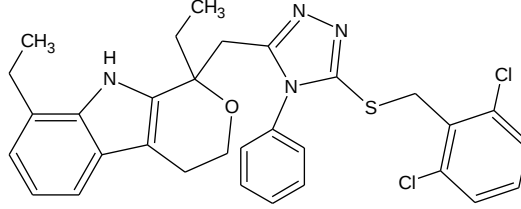
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.71 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.40 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.62 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.02 - 2.31 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.76 – 3.14 (m, 6H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃, 1 no.lu konumdaki -CH₂ ve 4 konumdaki -CH₂-); 3.59 - 3.95 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.36 (s, 2H, S-CH₂); 7.00 – 7.48 (m, 13H, Ar-H ve CHCl₃); 9.96 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 46).



Şekil 46. Bileşik 5r ¹H-NMR Spektrumu

1-{{5-(2,6-Diklorobenzil)sulfanil}-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5s]



Verim (%) : 88.0

R_f : 0.71 (Petrol eteri: Aseton 70:30 (h/h), t: 20 °C)

Görünüş : Beyaz billur madde.

Erime noktası : 85.0 – 86.0 °C

Çözünürlük : Asetonda, kloroformda ve DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.

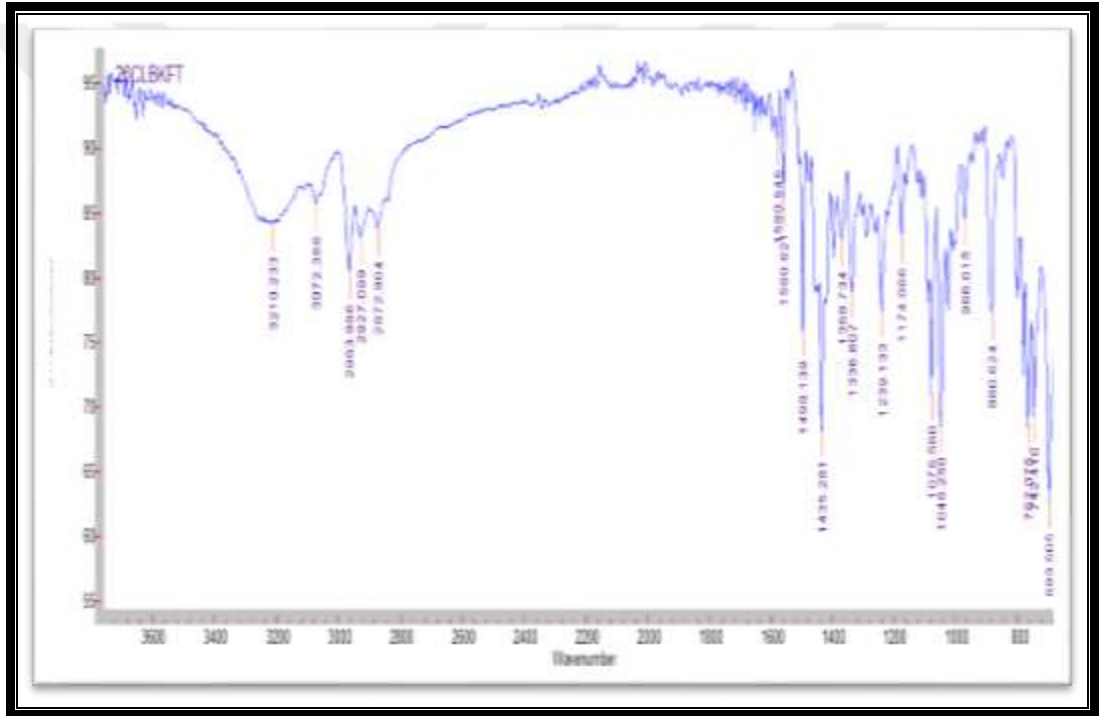
Elemental Analiz : C₃₁H₃₀Cl₂N₄OS. CH₃CH₂OH . H₂O için M.A. 641.65 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 61.77	H: 5.97	N: 8.73	S: 5.00
Bulunan (%)	C: 61.52	H: 5.73	N: 8.60	S: 5.40

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

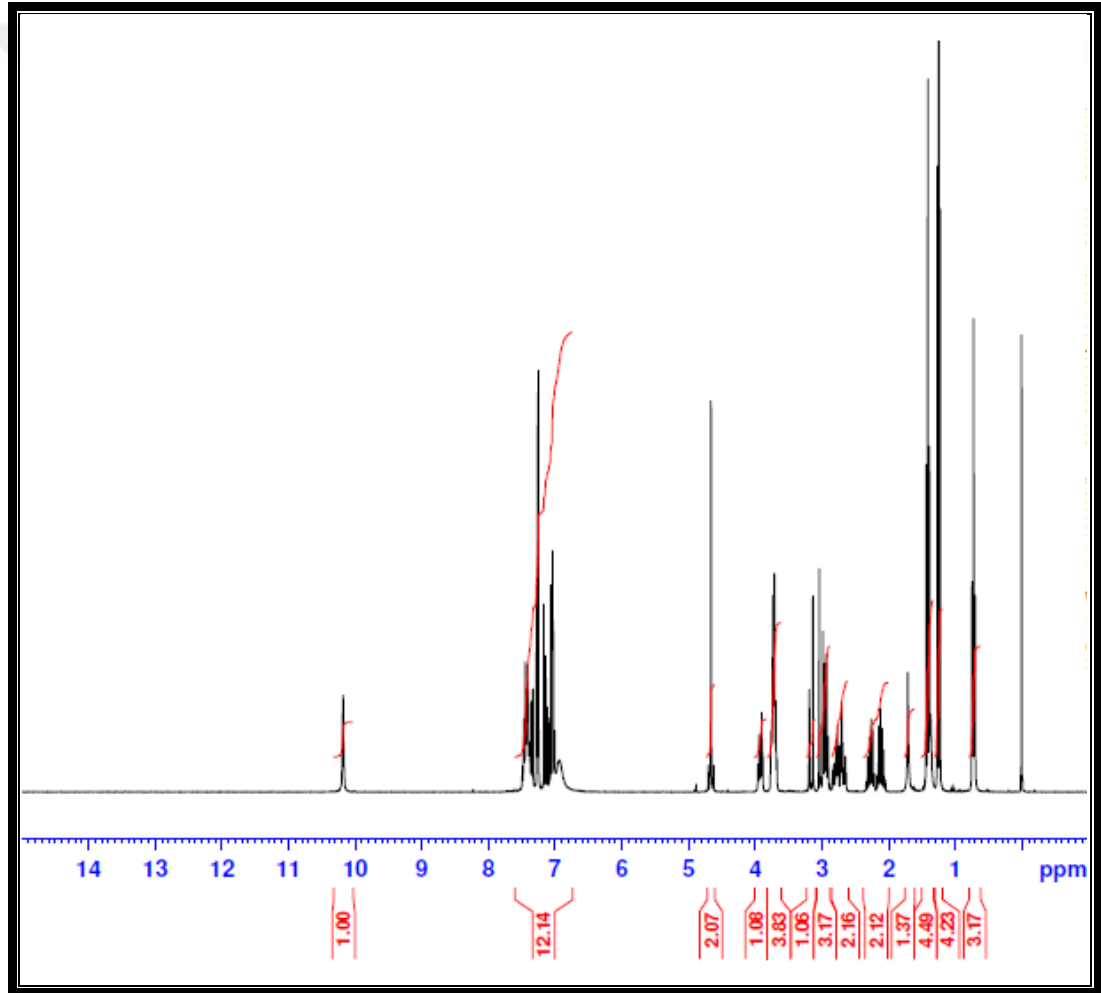
ν_{maks} (cm^{-1}): 3400 (O-H g.b.), 3210 (indol N-H g.b.); 3072 (aromatik C-H g.b.) 2963, 2927 (alifatik asimetrik C-H g.b.); 2872 (alifatik simetrik C-H g.b.); 1560, 1498, 1435 (indol N-H e.b., C=N g.b, aromatik C=C g.b.); 1368, 1336 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1239 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 765, 747 (monosübstitüe benzen); 693 (C-S e.b.) (Şekil 47).



Şekil 47. Bileşik 5s IR Spektrumu

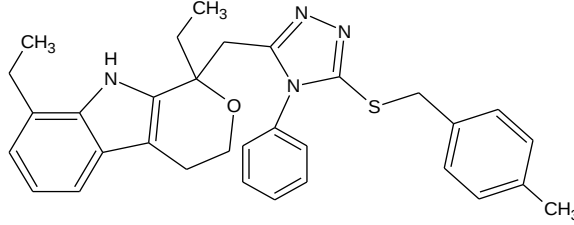
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.72 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.22 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.37 – 1.43 (Etanol çözücüsüne ait OH-CH₂-CH₃); 1.71 (s, 1H, CDCl₃ çözücüsününe ait pik); 2.07 – 2.28 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.65 – 3.19 (m, 6H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃, 1 no.lu konumdaki -CH₂- ve etanol çözücüsüne ait OH-CH₂-CH₃); 3.67 – 3.94 (m, 4H, 4 konumdaki -CH₂- ve 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.67 (dd, 2H, J=12 Hz, J=12 Hz, S-CH₂); 7.08 – 7.49 (m, 12H, Ar-H); 10.18 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 48).



Şekil 48. Bileşik 5s ¹H-NMR Spektrumu

1-[[5-(4-Metilbenzil)sulfanil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil]-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5t]



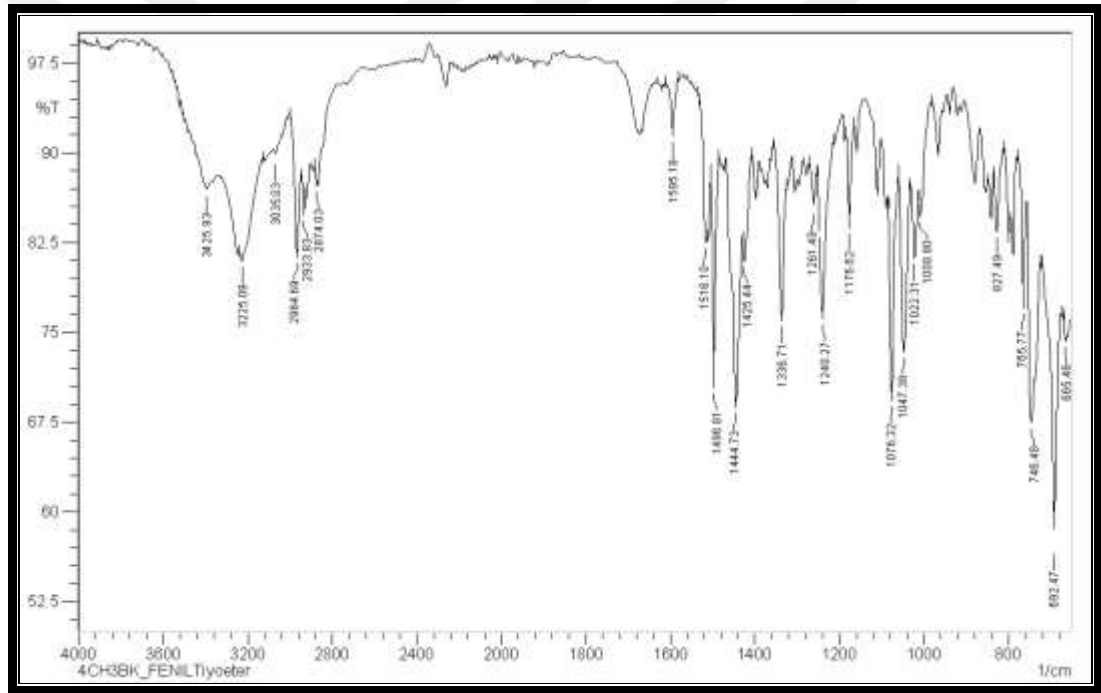
Verim (%)	56.3
R_f	0.49 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	Bej renkte billur toz
Erime noktası	126.8 °C
Çözünürlük	Asetonda, DMSO'da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	C ₃₂ H ₃₄ N ₄ OS.CH ₃ CH ₂ OH H ₂ O için M.A. 586.78 g/mol

Hesaplanan(%)	C: 69.59	H: 7.21	N: 9.55	S: 5.46
Bulunan (%)	C: 69.19	H: 6.75	N: 10.27	S: 5.57

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

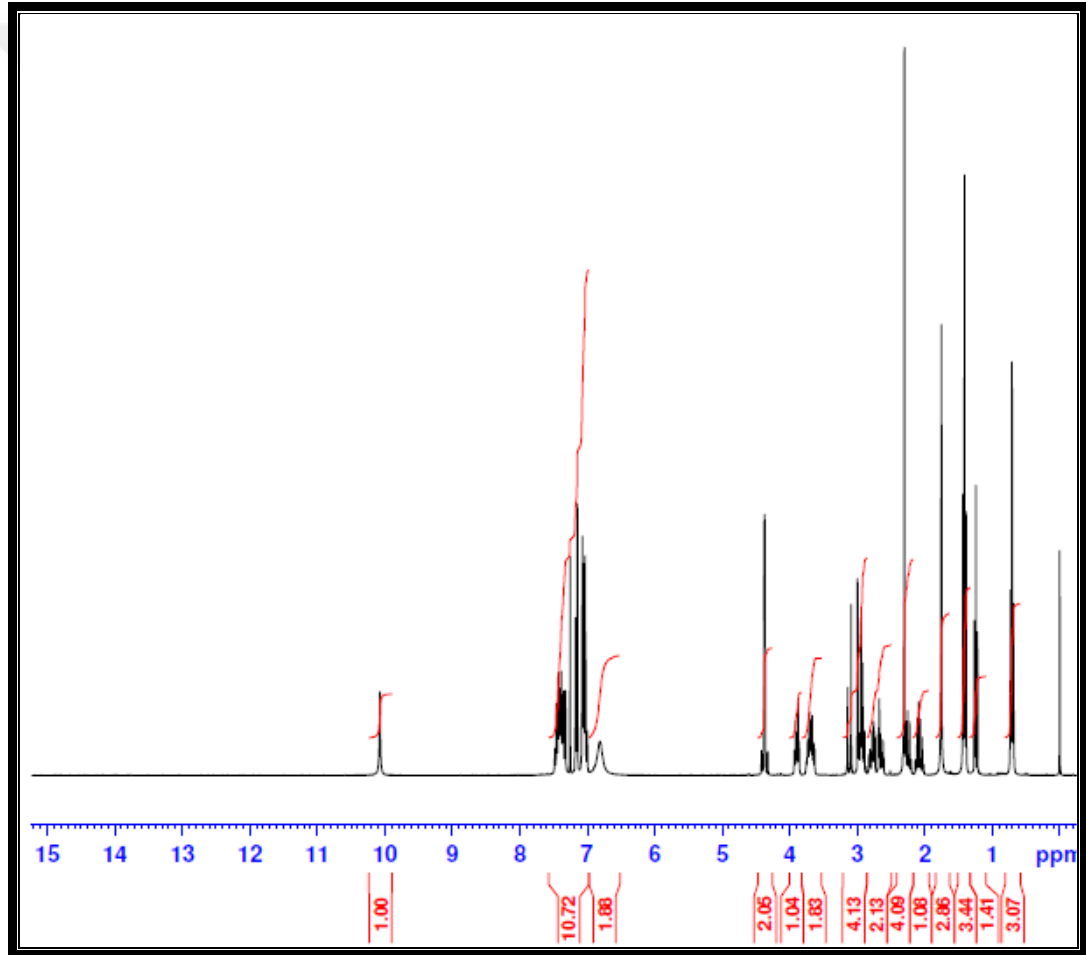
ν_{maks} (cm^{-1}): 3426 (molekölün tutuğu su molekülünün O-H g.b.); 3225 (indol N-H g.b.); 3035 (aromatik asimetrik C-H g.b.); 2965, 2934 (alifatik asimetrik C-H g.b.); 2874 (alifatik simetrik C-H g.b.); 1595, 1516, 1497, 1445, 1425 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1337 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1240 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 746, 692 (p-süstitüe benzen); 665 (C-S e.b.) (Şekil 49).



Şekil 49. Bileşik 5t IR Spektrumu

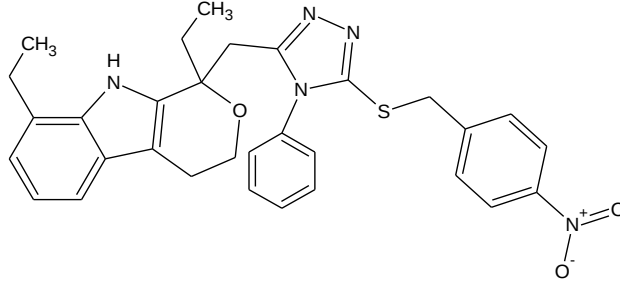
¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.71 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.24 (etanolün CH₃- piki); 1.41 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 1.76 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.04 – 2.28 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃); 2.30 (s, 3H, Ar-CH₃); 2.62 – 3.14 (m, 6H, 8 no.lu karbona bağlı -CH₂-CH₃, 1 no.lu konumdaki -CH₂ ve 4 konumdaki -CH₂-); 3.63 – 3.93 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.36 (dd, 2H, J=12 Hz, J=12 Hz, S-CH₂); 7.00 – 7.48 (m, 12H, Ar-H); 9.96 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 50).



Şekil 50. Bileşik 5t ¹H-NMR Spektrumu

1-{{5-(4-Nitrobenzil)sulfanil)-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5v]



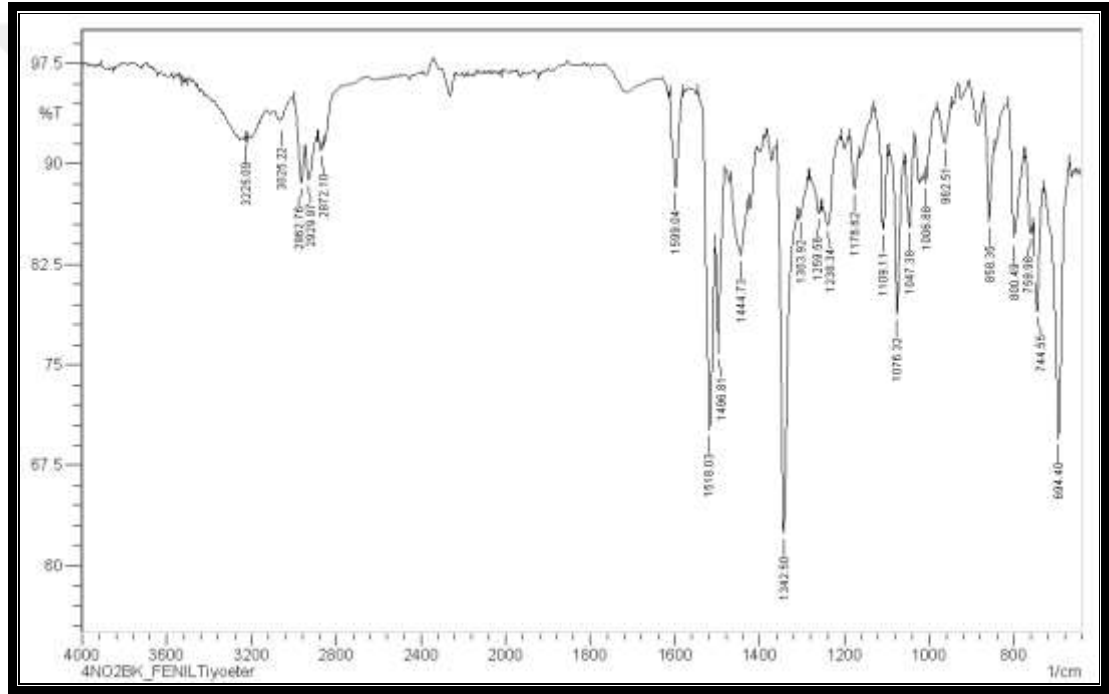
Verim (%)	: 48.5
R_f	: 0.23 (Petrol eteri: Aseton 60:40 (h/h), t: 20 °C)
Görünüş	: Sarı renkte billur madde.
Erime noktası	: 88.0 – 91.0 °C
Çözünürlük	: Asetonda, DMSO’da serbestçe çözünür, pratik olarak suda çözünmez.
Elemental Analiz	: C ₃₁ H ₃₁ N ₅ O ₃ S. H ₂ O için M.A. 571.69 g/mol

Hesaplanan (%)	C: 65.13	H: 5.82	N: 12.25	S: 5.61
Bulunan (%)	C: 65.91	H: 5.76	N: 12.23	S: 5.38

SPEKTRAL BULGULAR

IR Spektrumu:

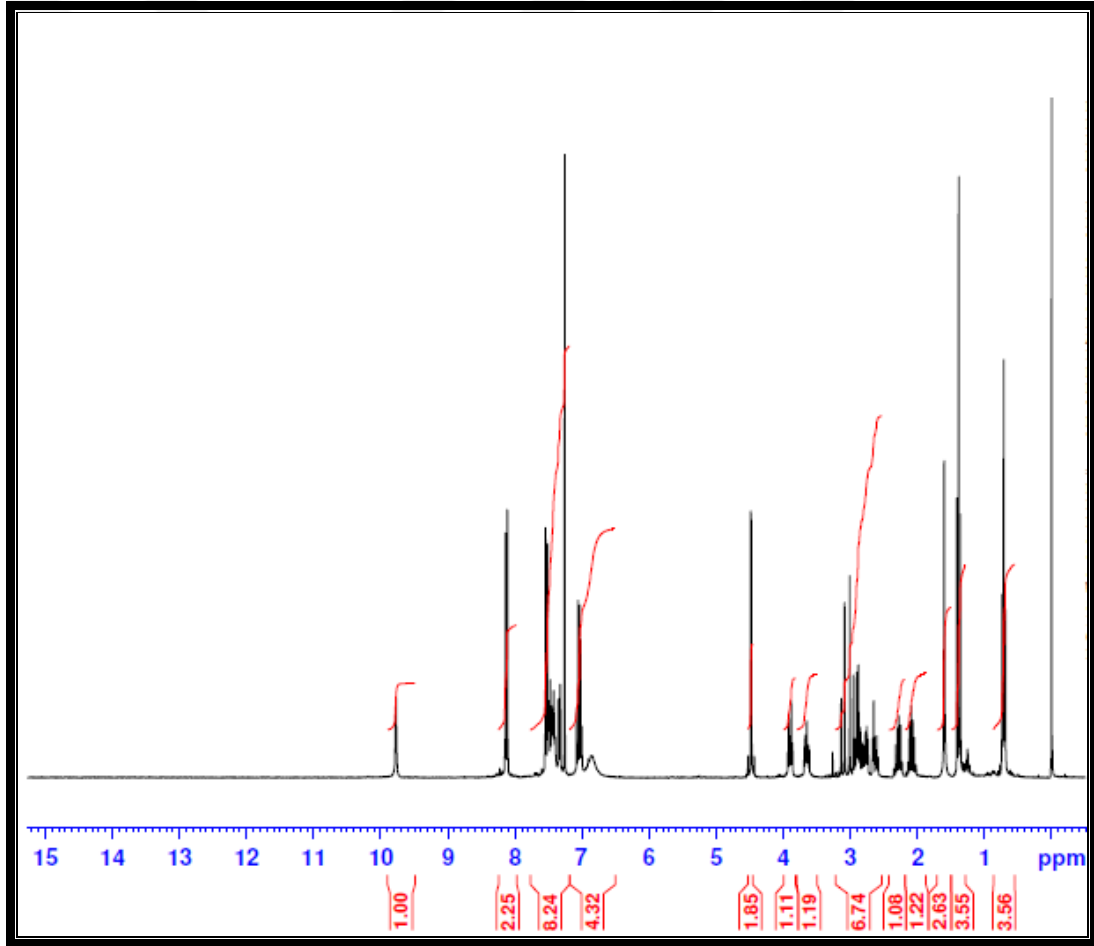
ν_{maks} (cm^{-1}): 3225 (indol N-H g.b.); 3025 (aromatik C-H g.b.); 2963, 2930 (alifatik asimetrik C-H g.b.); 2872 (alifatik simetrik C-H g.b.); 1599, 1518, 1497, 1445 (indol N-H e.b., aromatik C=C g.b., triazol C=N g.b.); 1343, 1304 (asimetrik ve simetrik C-H e.b.); 1238 (C-S g.b.); 1076 (piran C-O g.b.); 745, 694 (p-süstitüe benzen) (**Şekil 51**).



Şekil 51. Bileşik 5v IR Spektrumu

¹H-NMR Spektrumu:

(300 MHz) (CDCl₃-d/TMS) δ ppm: 0.72 (t, 3H, 1 no.lu karbona bağı -CH₂-CH₃); 1.39 (t, 3H, 8 no.lu karbona bağı -CH₂-CH₃); 1.60 (CDCl₃ çözücüsüne ait H₂O piki); 2.05 – 2.33 (m, 2H, 1 no.lu karbona bağı -CH₂-CH₃); 2.75 – 3.27 (m, 6H, 8 no.lu karbona bağı -CH₂-CH₃, 1 no.lu konumdaki -CH₂ ve 4 konumdaki -CH₂-); 3.61 – 3.93 (m, 2H, 3 no.lu konumdaki -CH₂); 4.49 (dd, 2H, J=15 Hz, J=15 Hz, S-CH₂); 6.83 – 7.48 (m, 8H, Ar-H); 8.13 (d, 2H, Ar-NO₂, orto konumundaki protonlar, J=8.7 Hz); 7.53 (d, 2H, Ar-NO₂, para konumundaki protonlar, J=8.7 Hz); 9.78 (s, 1H, indol N-H) (Şekil 52).



Şekil 52. Bileşik 5v ¹H-NMR Spektrumu

7. TARTIŞMA

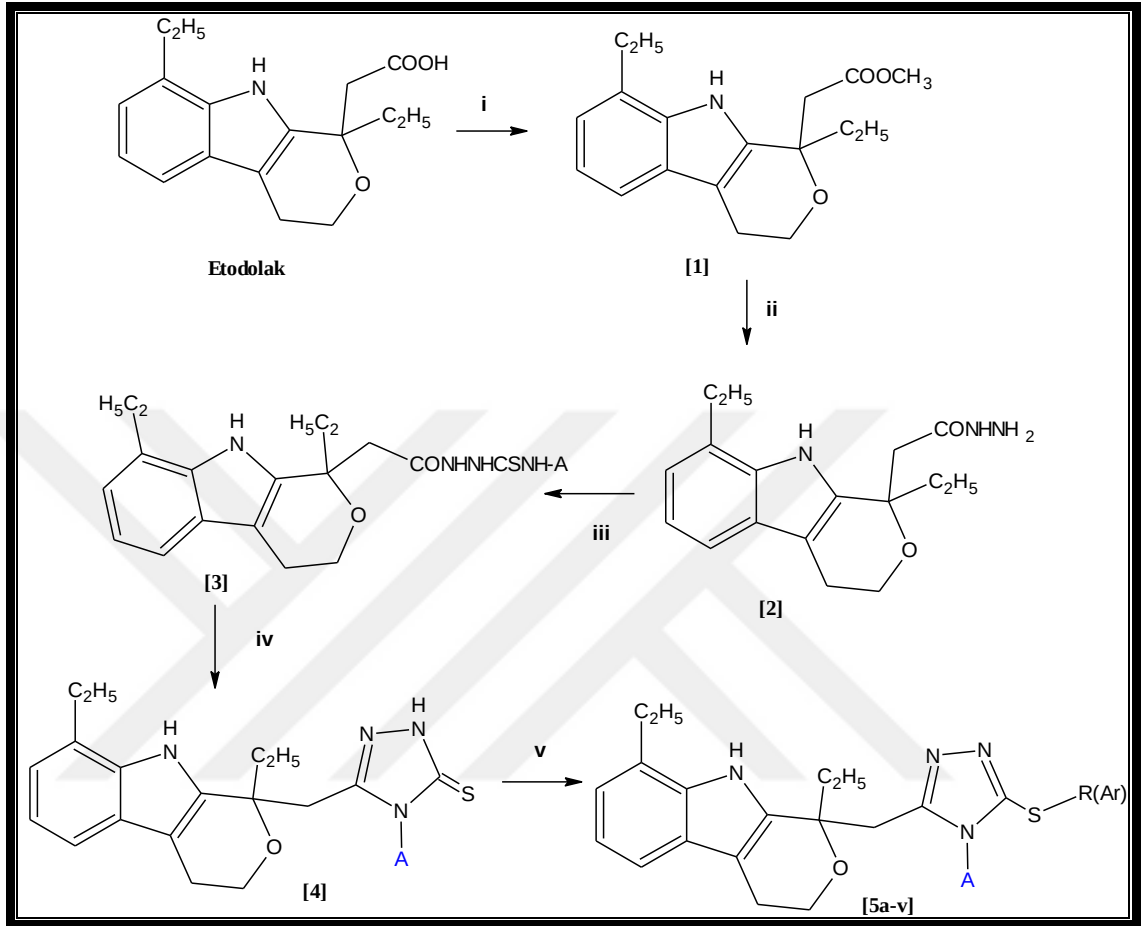
Pirano[3,4-*b*]indol yapısı içeren karboksilli asit türevi olan 1985'den beri seçici COX-2 inhibitörü etodolak, analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri olan streoit yapısında olmayan bir etken maddedir. İndol yapısı, yeni ilaç adaylarının geliştirilmesinde özellikle antikanser etkinlik göstermesi açısından önemlidir. İndol temelli farmakoforlar, indol türevlerinin antikanser ajanlara kayda değer şekilde cevap vermesi dolayısıyla yapısal modifikasyonlarda araştırmacılar arasında en çok tercih edilen yapılar olmaktadır. Sentez başlangıç maddesi olarak etodolak etken maddesini seçilmesindeki başlıca neden gösterdiği antikanser etkinliktir.

Literatürde tiyoeter türevlerini içeren birçok farklı sentezin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Tiyoeter bileşiklerinin hazırlanmasında en çok kullanılan metot, sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit varlığında yapılan sentezlerdir.

Tiyoeter bileşiklerinin elde edilmesinde monokloroasetik asit ile sulu sodyum hidroksit çözeltisi (Kothari ve ark., 1980), alkil halojenürler ile sodyum hidroksit çözeltisi (Ram ve Vlietinck, 1988; Ram ve ark., 1989; Bera ve ark., 2013), H₂O – aseton (2:1) ortamında potasyum hidroksit (Shao ve ark., 2014), etanol ortamında ve potasyum hidroksit (Mohammadhosseini ve ark., 2009; Tu ve ark., 2013), susuz asetonitril ortamında sodyum hidroksit (Zhang ve ark., 2013), N,N-dimetilformamid (DMF) ortamında ve CaCl₂ (Klimesova ve ark., 2004), benzen ortamında susuz K₂CO₃ (Patel ve Park, 2014), DMF ortamında mikrodalga yöntemini (Sun ve ark., 2014), etanol ortamında potasyum karbonat (Li ve ark., 2013), DMF ortamında susuz K₂CO₃ (Panathur ve ark., 2013; Rostom ve ark., 2009; Basile ve ark., 2012) kullanılır.

Bu bilgiler ışığında; etodolak 1,2,4-triazoller [4] DMF ortamında çözülmesi, eşit mol süstitüe benzil klorür türevi ve susuz K₂CO₃ ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında manyetik karıştırıcı üzerinde oda sıcaklığında reskiyona tabi tutulması ile 1-etil-8-etil-1-{{4-metil-5-(süstitüesulfanil)-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-*b*]indol [5a-v] elde edilmiştir (**Tablo 1**).

Genel sentez yolu **Şekil 53.**'de verilmektedir.



i: $\text{CH}_3\text{OH} / \text{H}_2\text{SO}_4$; **ii:** $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; **iii:** R-NCS/EtOH , **iv:** NaOH (2N) , **v:** DMF , K_2CO_3

A: $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}_6\text{H}_5$

Şekil 53. Tez kapsamında sentezlenen etodolak tiyoeterleri

Tablo 1. Tiyoeter **5a-v** bileşiklerinin açık formülleri

Bileşik	Formül	Bileşik	Formül
5a		5k	
5b		5l	
5c		5m	
5d		5n	
5e		5p	
5f		5r	
5g		5s	
5h		5t	

Bileşik	Formül	Bileşik	Formül
5i		5v	
5j			

Çalışmamızda sentezlenen **5a-v** bileşiklerinin saflık kontrolleri 20 °C - 25°C’de ince tabaka kromatografisindeki **5a, 5b, 5c, 5d, 5g, 5h, 5p, 5t, 5v** için S_1 ; **5e, 5f, 5i, 5m** için S_2 ve **5j, 5k, 5l, 5n, 5r, 5s** için ise S_3 sistemlerinde yapılmış olup, R_f değerleri Bölüm 6.1’de verilmiştir. Sentez ilkel maddeleri olan triazollerden farklı R_f ve erime noktası değerlerine sahip oldukları görülmüştür. Bu bileşiklerin açık formülleri **Tablo 1.**’de verim ve erime noktası değerleri **Tablo 2.**’de verilmiştir.

Tablo 2. Etodolak tiyoeterlerinin **5a-v** Fiziksel Bulguları

Bileşik	Verim	Molekül Formülü	M.A. (g/mol)	E.n. (°C)
5a	62.55	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ OS	446.61	162.0 – 163.0
5b	47.30	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ OS	464.60	161.1
5c	52.0	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ OS	481.05	153.4
5d	38.4	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ OS	481.05	116.0 – 119.0
5e	68.0	C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ O	515.50	145.0 – 147.0
5f	68.5	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ OS	460.63	104.2 – 105.5
5g	46.4	C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₃ S	491.61	133.4 – 136.8
5h	54.8	C ₂₇ H ₃₂ N ₄ OS	460.63	107.7
5i	63.8	C ₂₇ H ₃₁ FN ₄ OS	478.62	90.0 – 92.0
5j	56.8	C ₂₇ H ₃₁ ClN ₄ OS	495.08	107.7 - 109.4
5k	51.5	C ₂₇ H ₃₁ ClN ₄ OS	495.08	184.9 - 185.8
5l	42.2	C ₂₇ H ₃₀ Cl ₂ N ₄ OS	529.52	106 .0– 107.0
5m	76.5	C ₂₈ H ₃₄ N ₄ OS	474.67	80.0 – 81.0

5n	87.5	C ₃₁ H ₃₂ N ₄ OS	508.68	120.0 – 122.0
5p	56.8	C ₃₁ H ₃₁ FN ₄ OS	526.67	98.1
5r	68.2	C ₃₁ H ₃₁ ClN ₄ OS	543.12	100.0 – 102.0
5s	88.0	C ₃₁ H ₃₀ Cl ₂ N ₄ OS	577.57	85.0 – 86.0
5t	56.3	C ₃₂ H ₃₄ N ₄ OS	522.70	126.8
5v	48.5	C ₃₁ H ₃₁ N ₅ O ₃ S	553.67	88.0 – 91.0



7.1. FT-IR Bulguları

Etodolak tiyoeterleri [5a-v] bileşiklerinin FT-IR spektrum bulguları incelendiğinde; indol N-H gerilme bantları 3169 – 3293 cm⁻¹'lerde tespit edilmiştir.

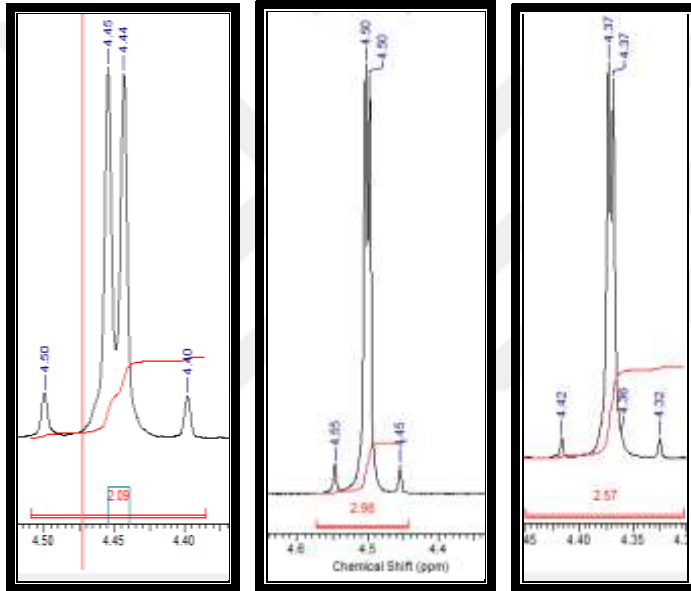
FT-IR sonuçları ile literatür bulguları uygunluk içerisinde olan bu bileşiklerin, indol yapısındaki N-H eğilme ve C-N gerilme titreşimleri ile aromatik C=C gerilme bandları da 1421 – 1622 cm⁻¹ arasında tespit edilmiştir. İndol halkasının yapısal FT-IR bulguları **Tablo 3.**'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 5a-v Tiyoeter bileşiklerinin IR Bulguları

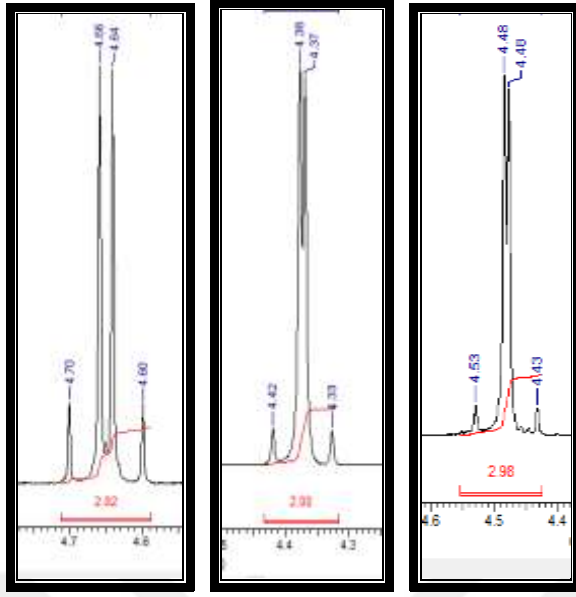
Bileşik	İndol N-H g.b.	Aromatik C=C g.b., C-N g.b. N-H e.b.
5a	3182	1504, 1496, 1471, 1458, 1440
5b	3254	1601, 1508, 1472, 1460, 1413
5c	3246	1601, 1582, 1520, 1476, 1447, 1422
5d	3169	1592, 1503, 1489, 1470, 1449
5e	3293	1558 , 1501, 1468, 1434
5f	3271	1622, 1514, 1498, 1464
5g	3190	1600, 1518, 1479
5h	3221	1600, 1504, 1475, 1456, 1438
5i	3246	1600, 1506, 1473, 1456
5j	3198	1598, 1510, 1474, 1438
5k	3185	1609, 1491, 1471, 1435
5l	3213	1579, 1562, 1510, 1473, 1437
5m	3252	1564, 1512, 1458, 1421
5n	3219	1597 , 1496, 1452, 1444
5p	3219	1597 , 1496, 1452, 1444
5r	3223	1597, 1510, 1497, 1447, 1424
5s	3184	1597, 1491, 1444, 1423
5t	3210	1560, 1498, 1435
5v	3225	1595, 1516, 1497, 1445, 1425

7.2. ^1H -NMR Bulguları

Etodolak tiyoeterleri [5a-v] bileşiklerinin ^1H -NMR spektrumlarını incelediğimizde S-CH₂ protonlarının 4.22-4.67 ppm aralığında integral değeri iki proton olarak gözlenmesi tiyoeter yapısındaki bileşiklerin oluştuğunun spektroskopik kanıtlarından ilkidir. Sentez bileşiklerinin ^1H -NMR spektrumlarında S-CH₂ protonları eşdeğer proton olmaması dolayısıyla double doublet şeklinde *J* değerleri 12 Hz, 12 Hz şeklinde tespit edilmiştir. Bazı kromatogramlar takip eden sayfalarda verilmektedir. (Şekil 54-55).



Şekil 54. Sırasıyla 5g, 5j, 5k bileşiklerinin S-CH₂ protonlarına ait yarılmalar



Şekil 55. Sırasıyla 5l, 5t ve 5v bileşiği S-CH₂ protonlarına ait yarılmalar

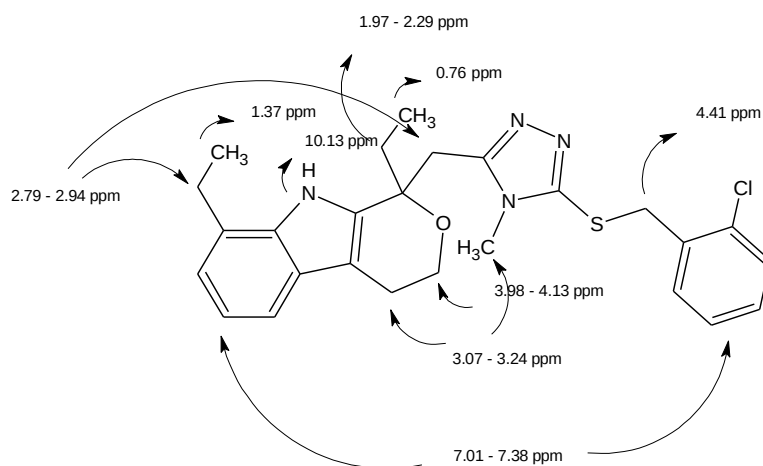
Etodolak tiyoeterlerinin [5a-v], etodolak ana iskeletinde bulunan indol N-H değeri 9.78 – 10.72 ppm aralığında singlet ve integrasyonu bir proton olacak şekilde tespit edilmiştir. Bu değerler, sentez ilkel maddesi olan etodolak etken maddesinin ¹H-NMR spektrumunda 10.57 ppm’de görülen indol N-H değeri ile uygunluk göstermektedir.

Tablo 4. Etodolak tiyoeterlerinin 5a-v ¹H-NMR Bulguları

Bileşik	-S-CH ₂ -	Ar	İndol -NH
5a	4.26	6.89 – 7.29	10.70
5b	4.31	6.95 – 7.36	10.04
5c	4.41	7.01 – 7.38	10.13
5d	4.30	6.99 – 7.37	10.03
5e	4.45 – 4.59	7.00 – 7.36	10.33
5f	4.22	6.87 – 7.25	10.72
5g	4.40 – 4.50	6.99 – 7.36	9.75
5h	4.39	6.99 – 7.37	10.41

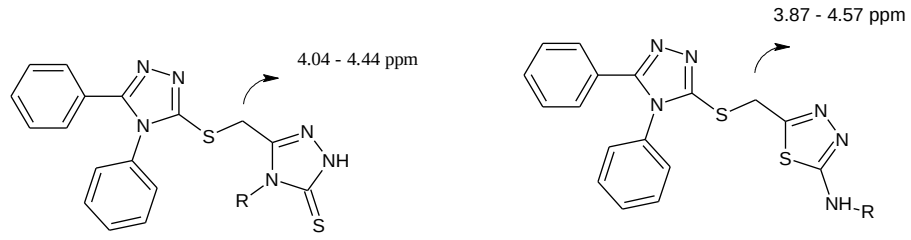
Bileşik	-S-CH ₂ -	Ar	İndol -NH
5i	4.37	6.94 – 7.37	10.31
5j	4.50 – 4.51	7.07 – 7.38	10.44
5k	4.39 – 4.37	6.99 – 7.37	10.32
5l	4.64 – 4.66	7.01 – 7.37	10.55
5m	4.36	6.99 – 7.37	10.42
5n	4.38 – 4.43	7.01 – 7.45	10.11
5p	4.38	6.92 – 7.50	9.95
5r	4.36	7.00 – 7.48	9.96
5s	4.66 – 4.67	7.08 – 7.49	10.18
5t	4.36	7.00 – 7.48	9.96
5v	4.48 – 4.49	6.83 – 7.48	9.78

5c bileşiğinin spektrum bulguları aşağıdaki kimyasal yapı üzerinde ayrıntı olarak gösterilmektedir.

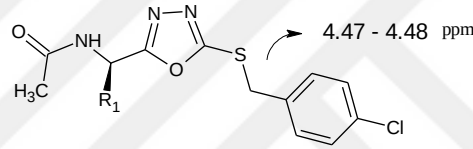


Popiolek ve ark. sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin ¹H-NMR spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 4,5-disüstitüe-1,2,4-triazol-3(2H)-tiyon türevi bileşiklerde 4.04 – 4.44 ppm’de, 2,5-disüstitüe-1,3,4-tiyadiazol türevi bileşiklerde

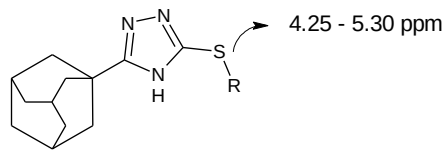
3.87 – 4.57 ppm’ de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır (Popiolek ve ark., 2013).



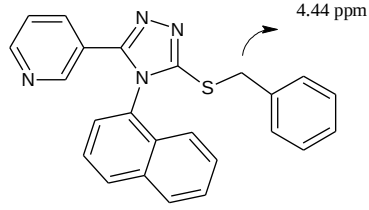
Yapılan başka bir çalışmada (Tu ve ark., 2013) tiyoeter yapısındaki bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında S-CH₂ protonlarının (S)-n-[1-(5-(3-klorobenziltiyo)-1,3,4-oksadiazol-2-il)süstitüe]-süstitüebenzamid türevi bileşiklerde 4.47 – 4.48 ppm’ de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır.



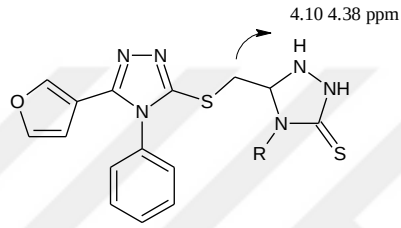
El-Emam ve İbrahim adlı araştırmacılar sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 1-(1-adamantil)-4-metil-5-süstitüe merkapt 1,2,4-triazol türevi bileşiklerde 4.25 – 5.30 ppm’ de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır.



Zamani ve ark. (Zamani ve ark., 2004) sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 3-benziltiyo-4-(1-naftil)-(5-izomerik piridil)-1,2,4-tiyazol türevi bileşiklerde 4.44 ppm’de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır.



Ulusoy ve ark. sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 4-alkil/aril-2,4-dihidro-5-[[[4-fenil-5-(2-furil)-1,2,4-triazol-3-il]tiyo]metil]-3H-1,2,4-triazol-3-tiyon türevi bileşiklerde 4.10 – 4.38 ppm’ de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır (Ulusoy ve ark., 1998).



7.3. ¹³C-NMR Bulguları

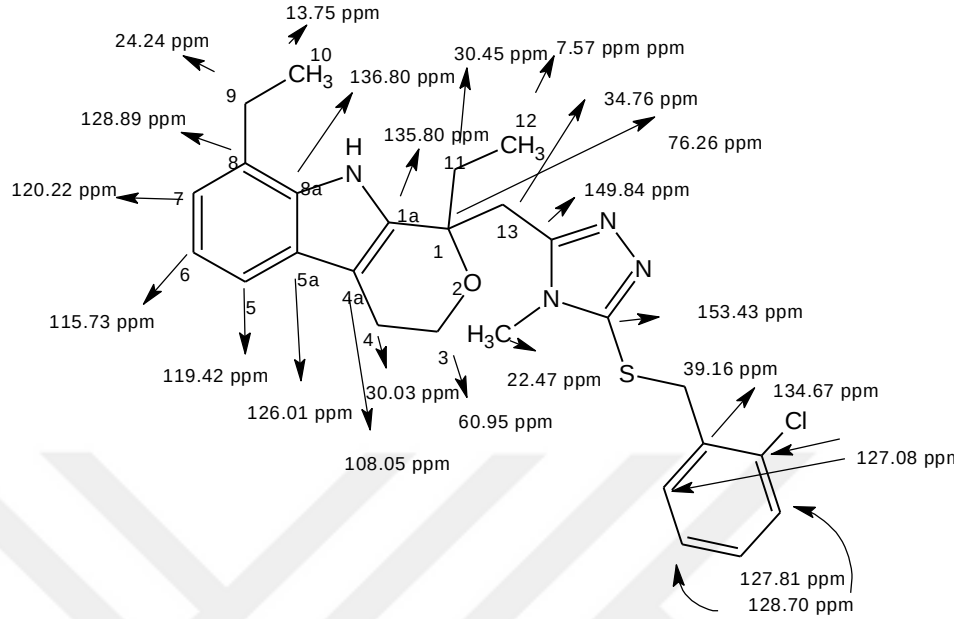
Sentezlenen **5a** bileşiğinin 150 MHz’de ve **5c**, **5d**, **5e**, **5h**, **5j** ve **5n** bileşiklerinin 75 MHz’de CDCl₃-d çözücüsü içinde çekilmiş ¹³C-NMR spektrumları Bölüm 6.’da verilmiştir.

Triazol-tiyoeter yapısındaki **5a**, **5c**, **5d**, **5e**, **5h**, **5j** ve **5n** bileşiklerinde, S-CH₂ karbonu yüksek enerjili alanda rezonansa uğrayarak sırasıyla 36.83, 39.16, 37.90, 34.97, 38.79, 38.83 ve 37.63 ppm’lerde, triazol halkasındaki C=N karbonu düşük enerjili alanda rezonansa uğrayarak sırasıyla 149.64, 149.84, 149.69, 149.00, 149.98, 149.33 ve 151.31ppm’de, C-S karbonu ise daha düşük enerjili alanda rezonansa uğrayarak 153.58, 153.43, 153.52, 153.85, 152.65, 152.77 ve 153.46 ppm’lerde saptanmıştır (**Tablo 5**). Bileşiklerde bulunan alifatik karbonlar daha yüksek enerjili alanda rezonansa uğrarken, aromatik karbonların daha düşük enerjili alanda pik verdikleri ¹³C-NMR spektrumlarında görülmüştür.

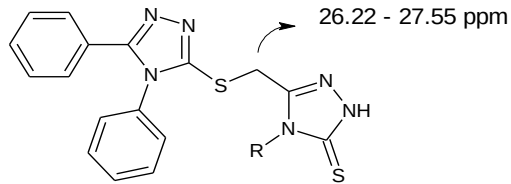
Tablo 5. Triazol-tiyoeter yapısındaki **5a**, **5c**, **5d**, **5e**, **5h**, **5j** ve **5n**’nin ¹³C-NMR Bulguları

Bileşik	Triazol –C=N (ppm)	Triazol C-S (ppm)	S-CH ₂ - (ppm)
5a	149.64	153.58	36.83
5c	149.84	153.43	39.16
5d	149.69	153.52	37.90
5e	149.00	153.85	34.97
5h	149.98	152.65	38.79
5j	149.33	152.77	38.83
5n	151.31	153.46	37.63

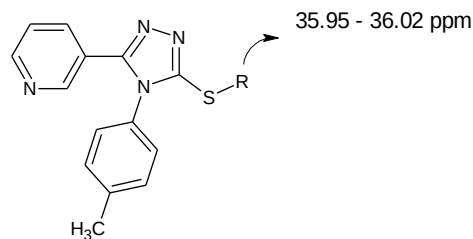
5c bileşiğinin spektrum bulguları aşağıdaki kimyasal yapı üzerinde ayrıntı olarak gösterilmektedir.



Popiolek ve ark. sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 4,5-disubstitüe-1,2,4-triazol-3(2H)-tiyon türevi bileşiklerde 26.22 – 27.55 ppm’de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır (Popiolek ve ark., 2013).



Zamani ve ark. (Zamani ve ark.; 2003) sentezledikleri tiyoeter yapısındaki bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında S-CH₂ protonlarının 3-metil, 3-etil, 3-benzil-4-(4-metilfenil)5-(izomerik piridil)-1,2,4-triazol türevi bileşiklerde 35.95 - 36.02 ppm’de rezonansa uğramasından dolayı, bileşiklerin tiyoeter formunda olduğunu saptamışlardır.



7.4. Kütle Bulguları

Etodolak-tiyoeter yapısındaki **5a**, **5c**, **5e**, **5k**, **5n** bileşiklerinin elektron iyonizasyon (EI⁺) tekniği ile alınan yüksek rezolüsyonlu kütle spektroskopisi (HR-MS) sonuçları değerlendirilmiştir. Bileşiklerin molekül ağırlığı ve elemental kompozisyonu, kütle bölünmeleri sonucu oluşan parçalara ait m/z değerleri monoisotopik kütle değerleri ile oluşan bazı parçaların kapalı formüllerinden yapıları tespit edilmiştir. Hem molekül ağırlıkları hem de kapalı formülleri ile yapıları doğrulandığından, bu bileşiklerin sentezinin gerçekleştiğinin spektroskopik kanıtlarından biri olmuştur. Bileşiklerin moleküler iyon piklerine ait hesaplanan ve bulunan m/z değerleri, elementel kompozisyonu ile bunlara ait olan monoisotopik kütle verileri için, hesaplanan ve bulunan değerlerin birbirleriyle uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir ve **Tablo 6**'da verilmiştir. Klor gibi elementleri içeren bileşiklerin kütle spektrumlarında izotop pikleri, bu atomların sayısına bağlı olarak değişik şiddette [M+2]⁺ ortaya çıkarmıştır. **5c** ve **5k** bileşiklerinde bir klor atomu bulunduğundan Cl³⁷ izotopundan dolayı, moleküler iyon pikinin yaklaşık 1/3 ü büyüklüğünde [M+2]⁺ piki gözlenmiştir. **5e** bileşiğinde ise iki klor atomu bulunduğundan moleküler iyon pikinin yaklaşık 1/3 ü büyüklüğünde [M+2]⁺ piki gözlenmiştir.

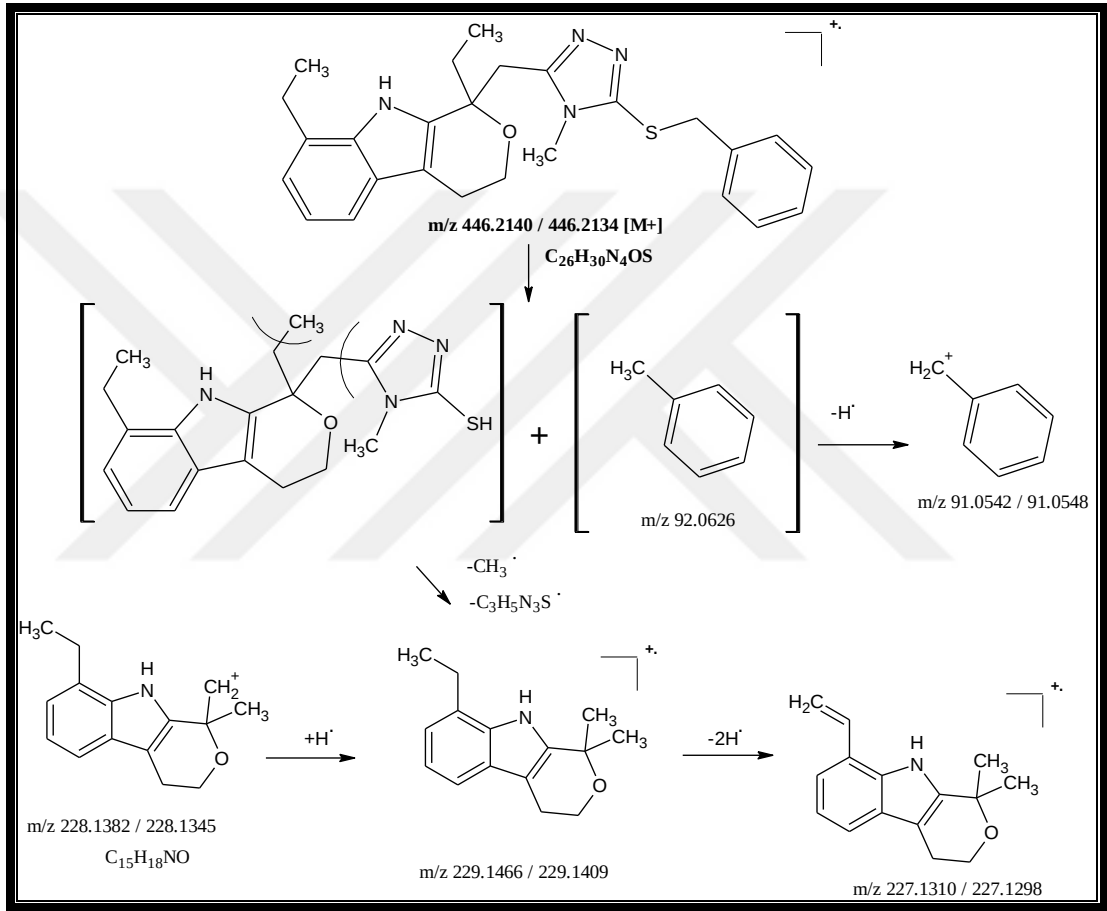
Tablo 6. *5a, 5c, 5e, 5k, 5n Bileşiklerinin HR-MS Tekniğine göre Moleküler İyon Pikleri*

Bileşik	HR-MS (EI ⁺) M ⁺ (m/z) Hesaplanan/ Bulunan
5a	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ OS 446.2140 / 446.2134
5c	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ OS 480.1747 / 480.1745
5e	C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ OS 514.1347 / 514.1361
5k	C ₂₇ H ₃₁ ClN ₄ OS 494.1882 / 494.1907
5n	C ₃₁ H ₃₂ N ₄ OS 508.2283 / 508.2297

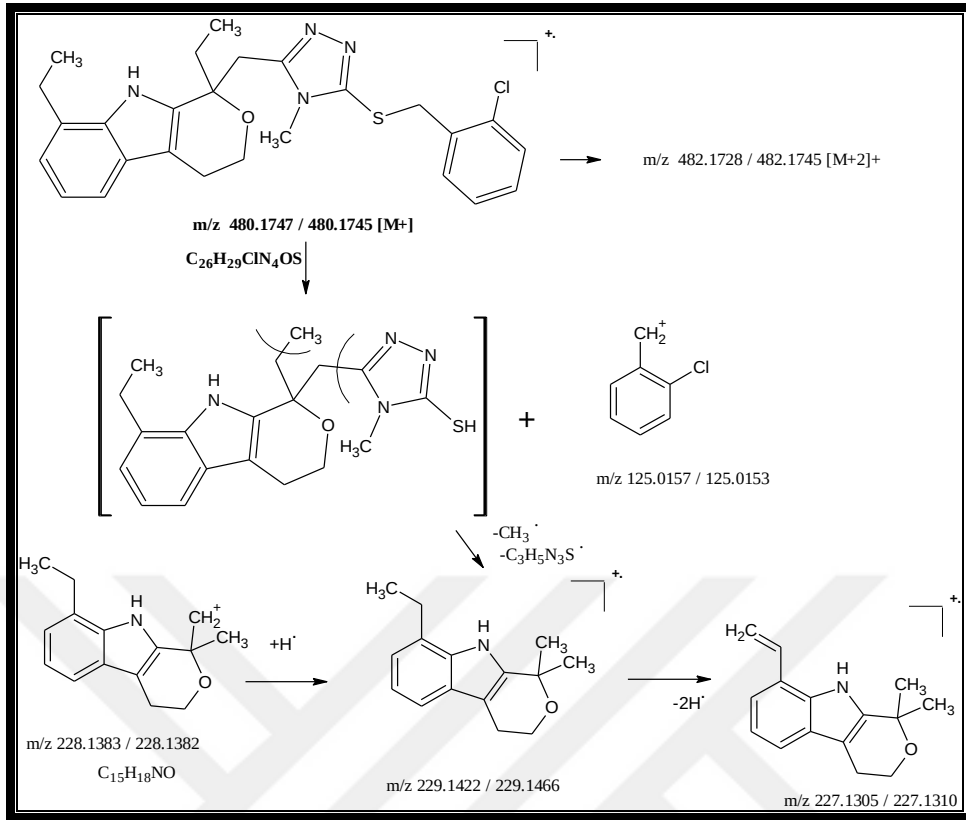
Literatürde etodolak metil esterinin kütle spektrumunda, 1 nolu karbon sübstitüentinin, EI yöntemiyle parçalanmasıyla, metilen metil asetat grubunun kaybı

ile m/z 228 pikinin oluştuğu bildirilmektedir. (Ferdinandi ve ark., 1986; Giachetti ve ark., 1994).

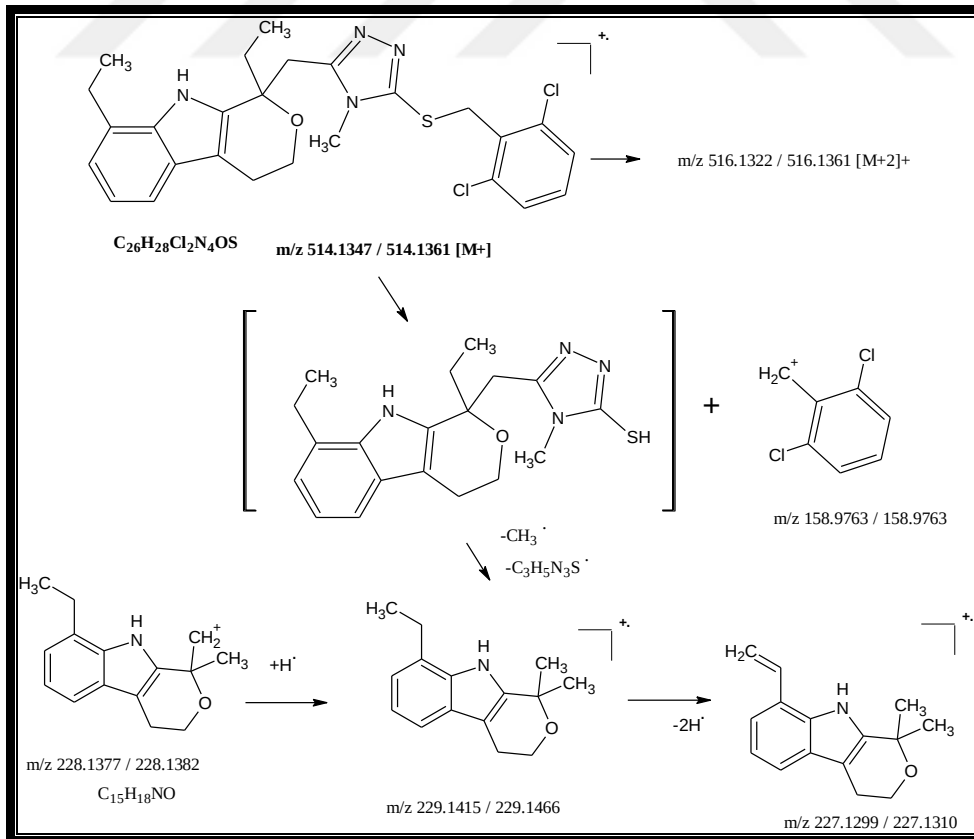
Bu bilgiler ışığında; bileşiklerin kütle spektrumları incelendiğinde takip eden sayfalarda bileşiklerin kütle parçalanma yolları verilmektedir. Bağlı bolluğu %100 olan m/z 228 pikinin bütün bileşiklerde temel olarak parçalanmaları görülmektedir.



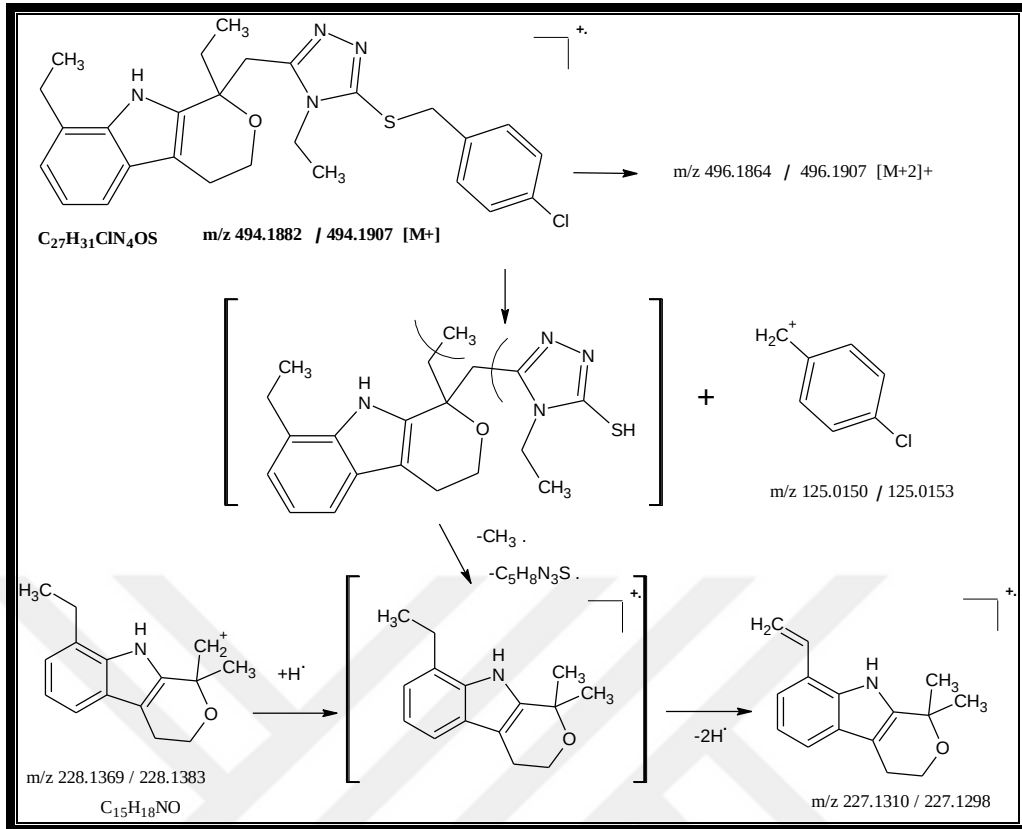
Şekil 56. Bileşik 5a kütle parçalanma yolları



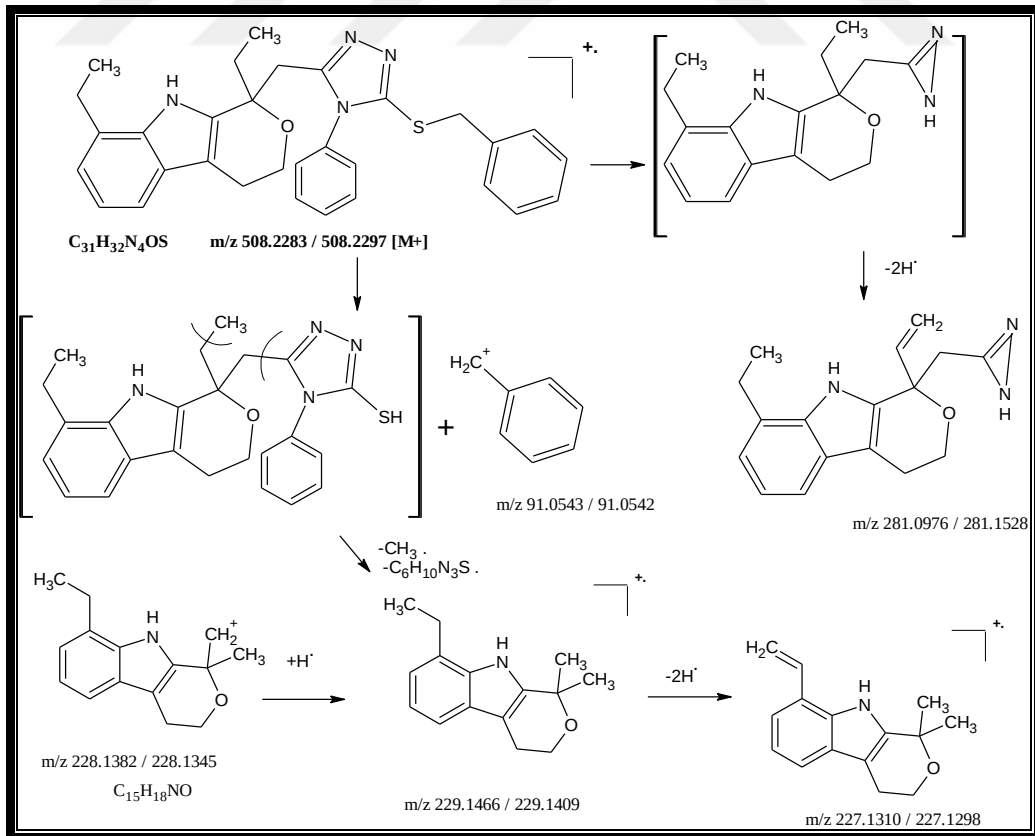
Şekil 57. Bileşik 5c kütle parçalanma yolları



Şekil 58. Bileşik 5e kütle parçalanma yolları



Şekil 59. Bileşik 5k kütle parçalanma yolları

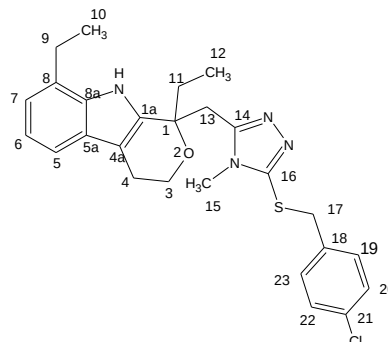


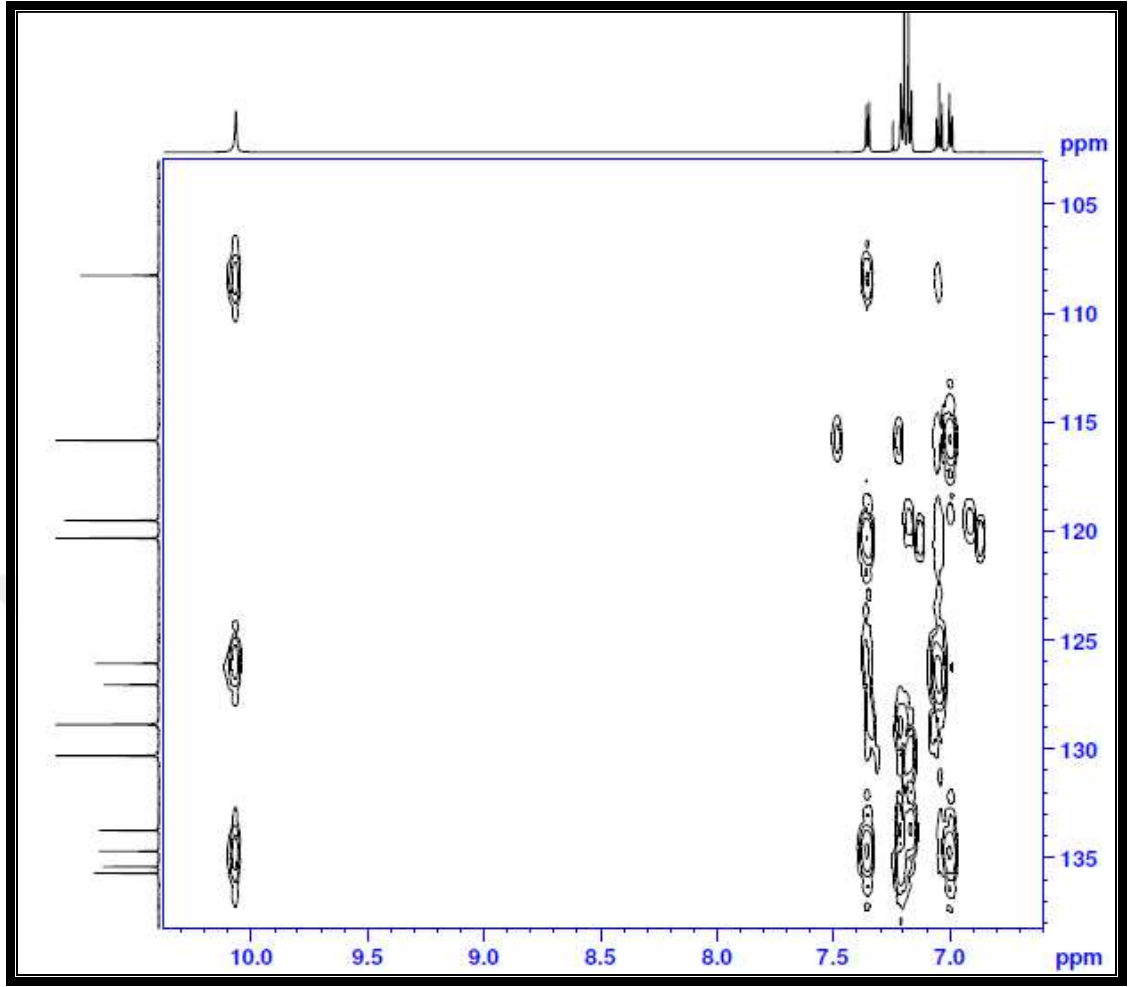
Şekil 60. Bileşik 5n kütle parçalanma yolları

7.5 HMCB Spektumları

HMBC spektrumu değerlendirmesi için **5d** bileşiğinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarını ilişkilendirilmesi yapılmıştır. 600 MHz’de alınan HMBC spektrumu ile bileşiğe ait ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları uygunluk içerisinde; bu bileşiğe ait uzun alan etkileşimleri de beklenildiği gibi, HMBC spektrumlarında görülmüştür.

Etkileşimler	Hidrojen ve Karbon numaraları
0.77; 30.62	H12, C11
0.77; 76.32	H12, C1
1.36; 30.18	H10, C4
1.36; 126.05	H10, C5a
2.30; 7.62	H11, C12
2.30; 76.32	H11, C1
2.76; 108.24	H9, C4a
2.92; 149.69	H13, C14
2.932;13.81	H13, C10
2.92; 30.62	H13, C11
2.92; 119.50	H13, C5
2.92; 126.05	H13, C5a
2.92; 135.41	H13, C1a
2.92; 149.69	H13, C14
3.14; 149.69	H4, C14
3.98; 149.69	H3, C14
3.98; 76.32	H3, C1
3.98; 30.62	H3, C11
6.99; 30.18	H7, C4
6.99; 135.41	H7, C1a
6.99; 115.81	H7, C6
7.37 ; 120.30	H5, C7
7.37; 22.48	H20, C15
7.37; 153.52	H23, C16
10.03; 108.24	İndol NH, C4a
10.03; 126.05	İndol NH, C5a
10.03; 135.41	İndol NH, C1a

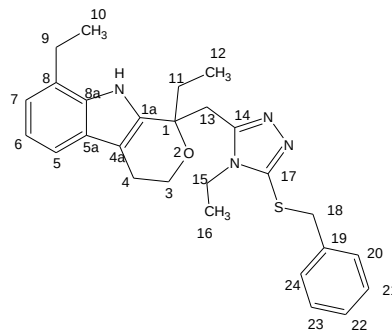


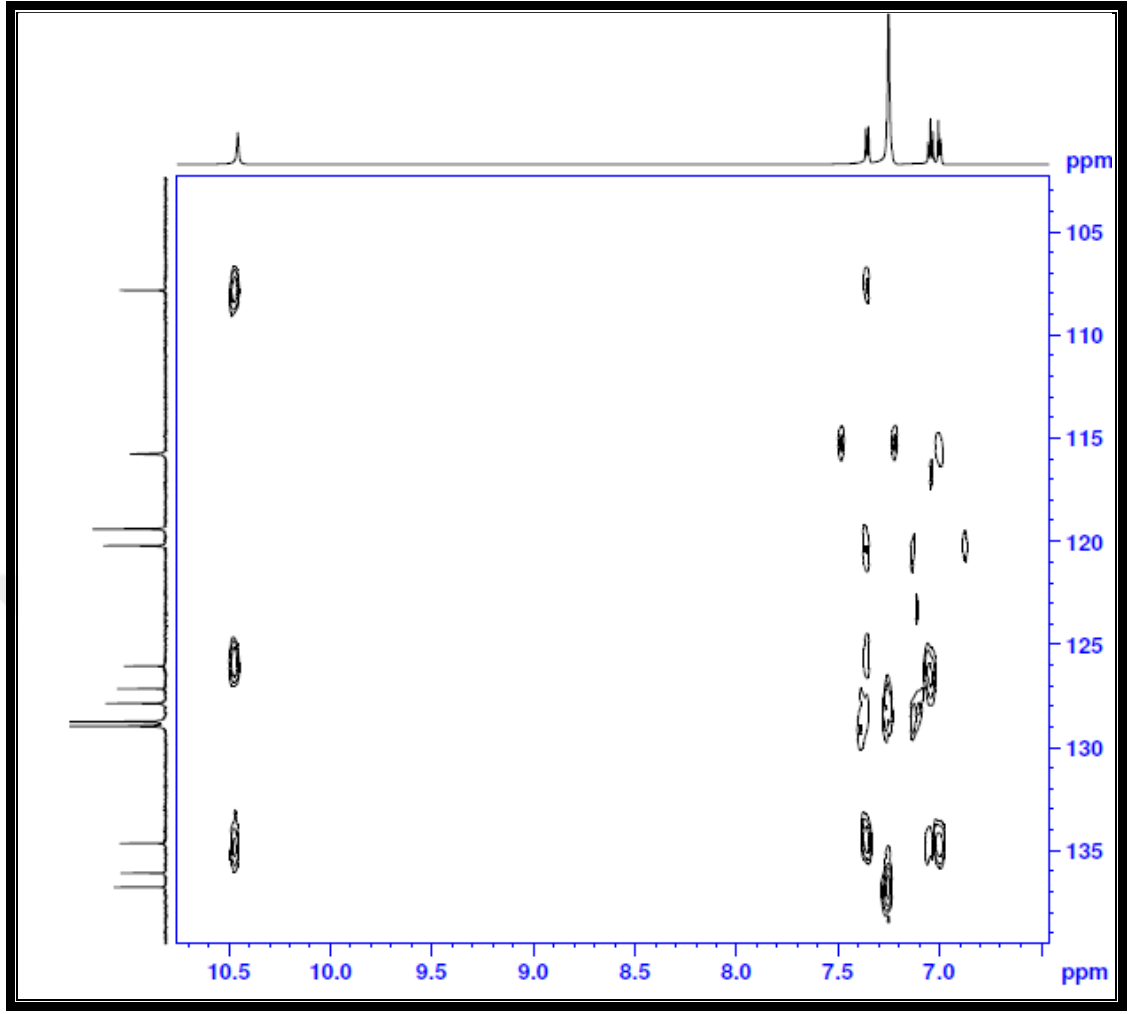


Şekil 61. Bileşik **5d** indol NH etkileşimleri (yakınlaştırılmış spektrum)

HMBC spektrumu değerlendirmesi için **5h** bileşiinin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumlarını ilişkilendirilmesi yapılmıştır. 600 MHz'de alınan HMBC spektrumu ile bileşiğe ait ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları uygunluk içerisindedir; bu bileşiğe ait uzun alan etkileşimleri de beklenildiği gibi, HMBC spektrumlarında görülmüştür.

Etkileşimler	Hidrojen ve Karbon numaraları
0.77; 24.31	H12, C11
0.77; 76.34	H12, C1
1.38; 22.52	H10, C4
1.38; 126.03	H10, C5a
2.03; 7.64	H11, C12
2.03; 76.34	H11, C1
2.81; 107.86	H9, C4a
2.96; 149.50	H13, C14
3.1; 13.81	H13, C10
3.1; 24.31	H13, C11
2.96; 119.40	H13, C5
2.96; 126.03	H13, C5a
2.96; 136.01	H13, C1a
2.96; 149.58	H13, C14
3.62; 149.58	H4, C14
3.70; 149.58	H3, C14
3.70; 76.34	H3, C1
3.70; 24.31	H3, C11
6.99; 22.52	H7, C4
6.99; 136.01	H7, C1a
6.99; 115.76	H7, C6
7.37 ; 120.20	H5, C7
7.37; 30.30	H24, C15
7.37; 14.89	H24, C16
10.41; 107.86	İndol NH, C4a
10.41; 126.03	İndol NH, C5a
10.41; 136.01	İndol NH, C1a





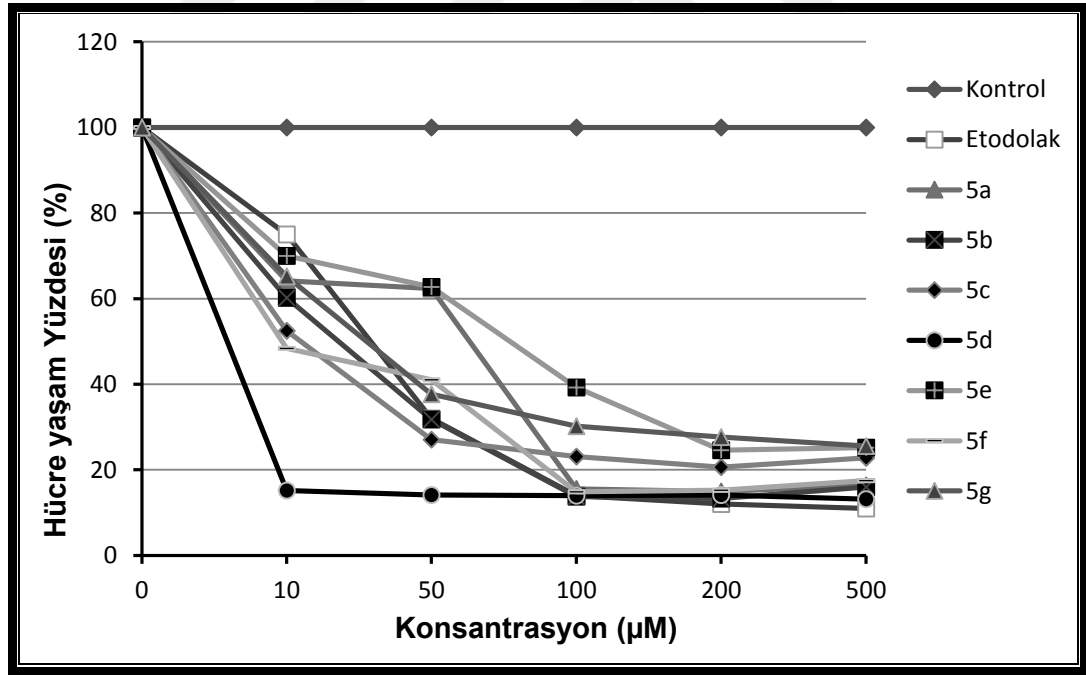
Şekil 62. Bileşik 5h indol NH etkileşimleri (yakınlaştırılmış spektrum)

7.6. Biyolojik Etkiler

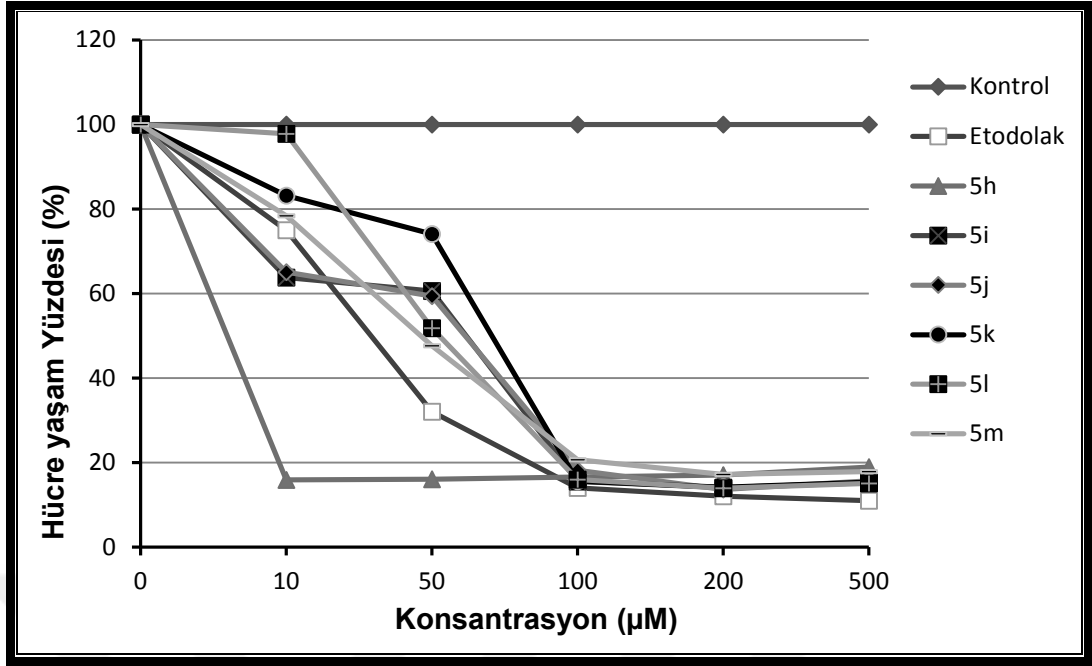
7.6.1. Antikanser ve Apoptozis Etkileri

Sentezlenen 19 adet orijinal bileşik VERO (maymun böbrek kanseri) , HEPG2 (insan karaciğer kanseri) , SKOV3 (insan yumurtalık kanseri), MCF7 (insan göğüs kanseri) ve PC3 (androjene bağımlı olmayan insan prostat kanseri) hücre hatlarında MTT kolorimetrik miktar tayini yöntemi ile test edilmiştir.

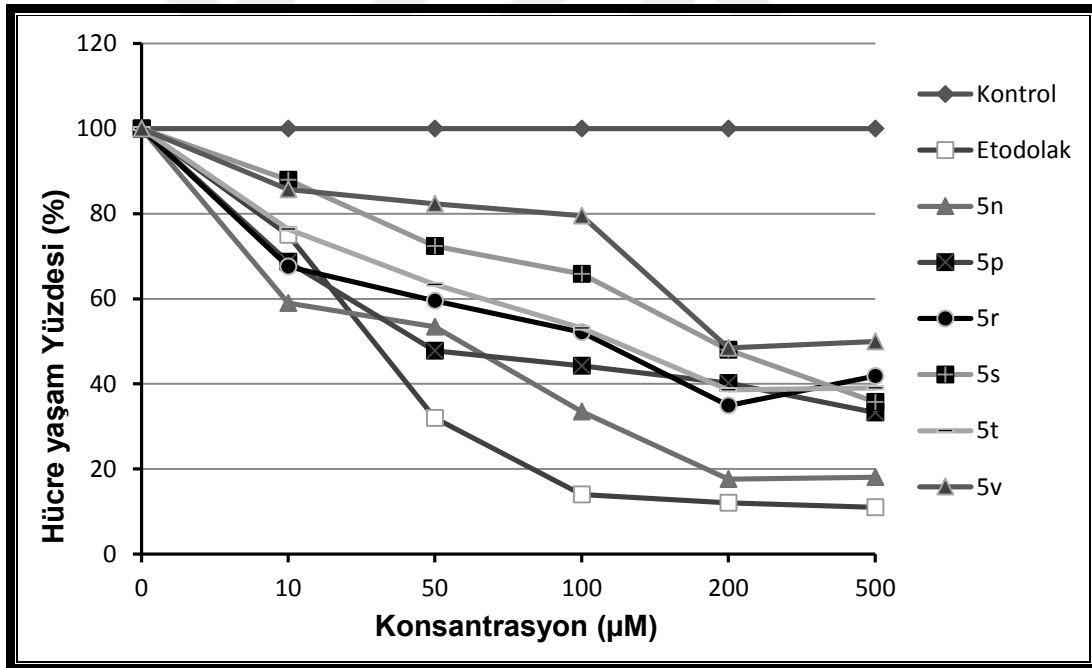
Etodolak tiyoeterleri [5a-v] ile VERO (maymun böbrek kanseri) hücrelerinde doza bağılı sitotoksisite testi yapılmıştır (Şekil 63-65). 1-{{[5-(4-klorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5d] ve 1-{{[5-benzilsulfanil)-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [5h] bileşiklerinin 10^{-5} M konsantrasyonda sitotoksik olduğu saptanmıştır.



Şekil 63. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 1

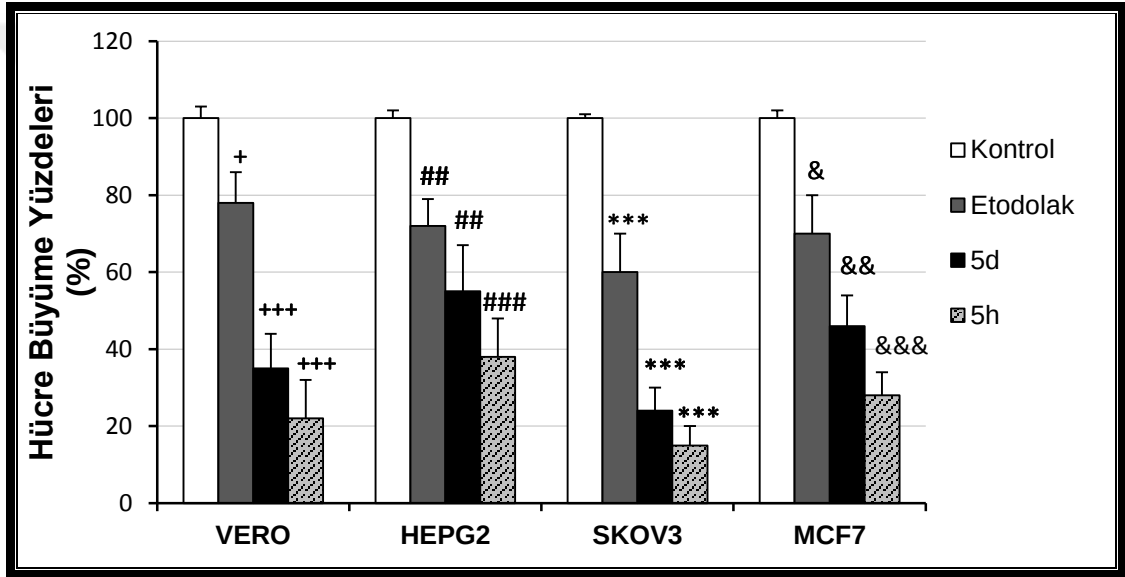


Şekil 64. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 2



Şekil 65. 24. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin VERO hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 3

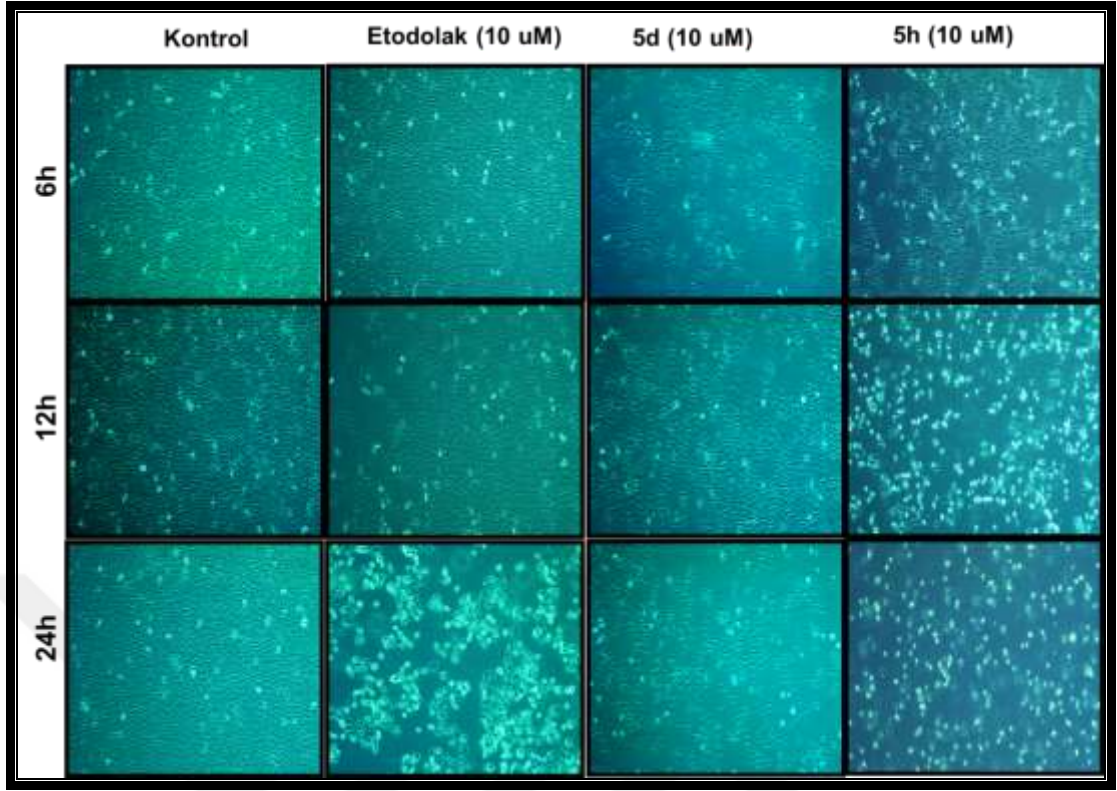
Sitotoksistekte etkili olan dozu (10^{-5} M) ve bileşikleri kullanılarak 4 farklı kanser türü ile VERO (maymun böbrek kanseri) , HEPG2 (insan karaciğer kanseri) , SKOV3 (insan yumurtalık kanseri), MCF7 (insan göğüs kanseri) ve PC3 (androjene bağımlı olmayan insan prostat kanseri) hücre hatlarında etkili olan kanser türü belirlenmiştir (**Şekil 66**). SVO3 hücre hatlarında 1-[[5-(4-klorobenzil)sulfanil]-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol [**5d**] ve 1-[[5-benzilsulfanil]-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano [3,4-b]indol [**5h**] bileşiklerinin antikanser aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.



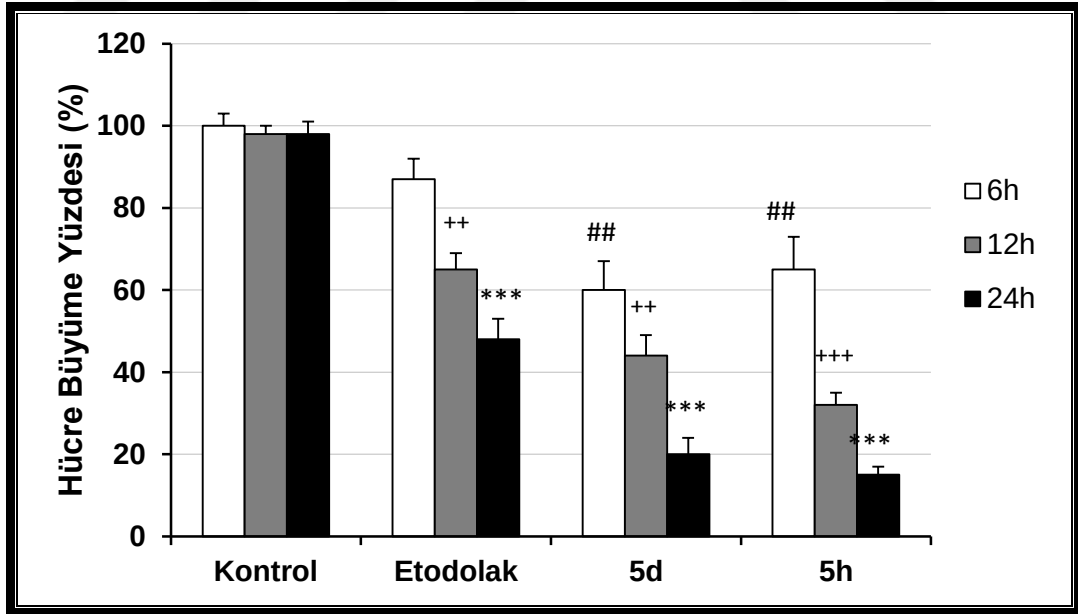
Şekil 66. 10 μ M Konsantrasyondaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin 24.saatteki farklı hücre hatlarındaki hücre büyüme yüzdeleri

(+ $p < 0.05$, +++ $p < 0.001$ Vero hücrelerindeki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; (## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ HEPG2 hücrelerindeki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; *** $p < 0.001$ SKOV3 hücrelerindeki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$, && $p < 0.01$, &&& $p < 0.001$ MCF7 hücrelerindeki kontrol grupları ile karşılaştırıldığında)

Bu çalışmayı takiben floresans mikroskopla hücre ölümünü göstermek için SKOV3 kanser hücrelerinde AO/EB boyaması yapılmıştır (**Şekil 67, 69-70**) ve SKOV3 yumurtalık kanserinde zamana bağlı hücre büyümesi incelenmiştir (**Şekil 68**).

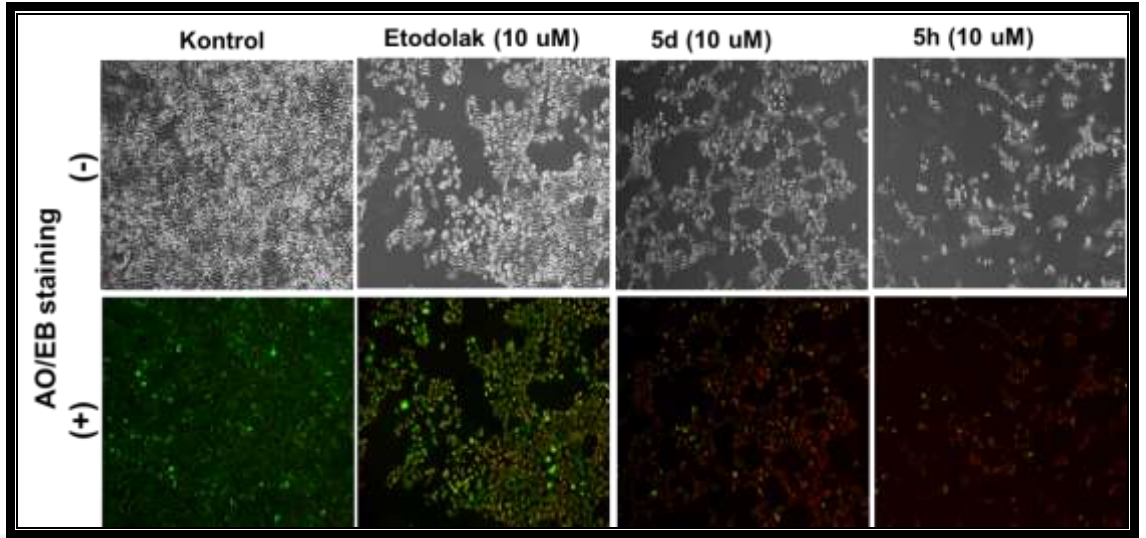


Şekil 67. Etodolac, 5d ve 5h bileşiklerinin hücre büyüme görüntüleri

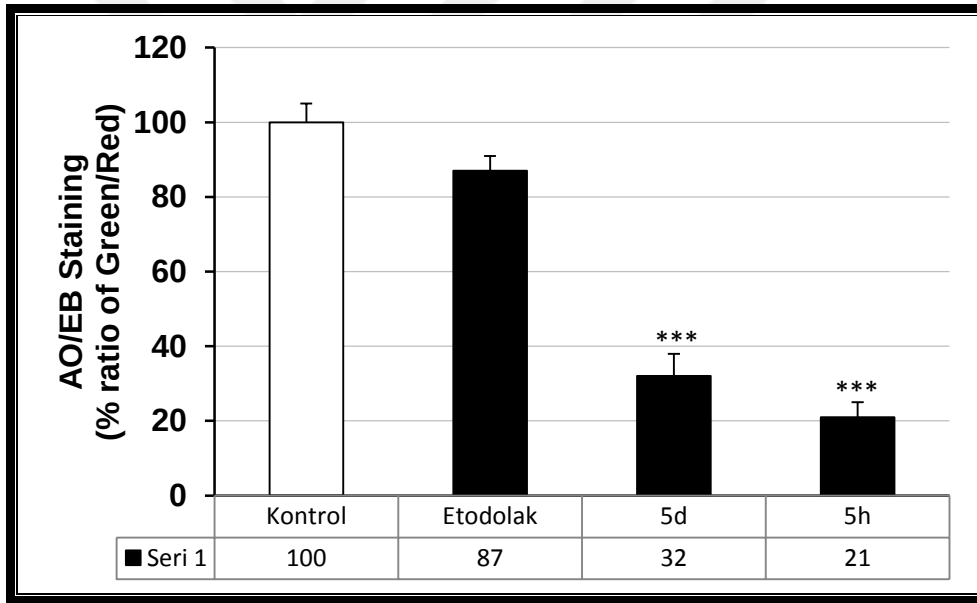


Şekil 68. 6., 12. ve 24. Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolac, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki yüzde hücre büyümeleri

(## $p < 0.01$ 6.saatteki kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$ 12.saatteki kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, *** $p < 0.001$ 24.saatteki kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)



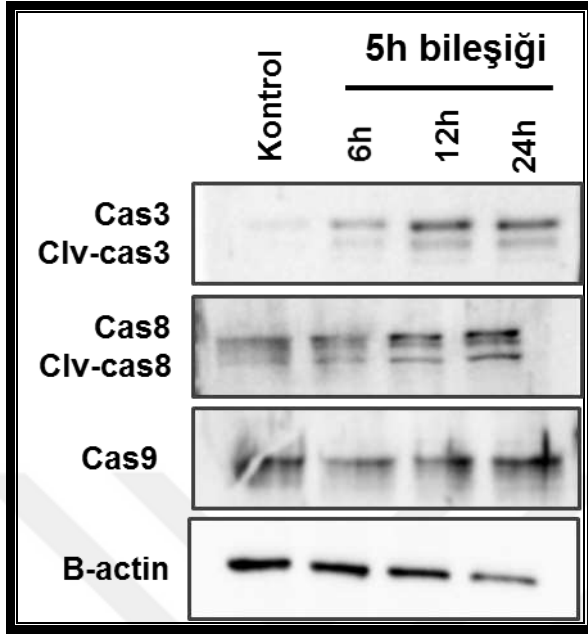
Şekil 69. Etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin AO/EB boyaması görüntüleri



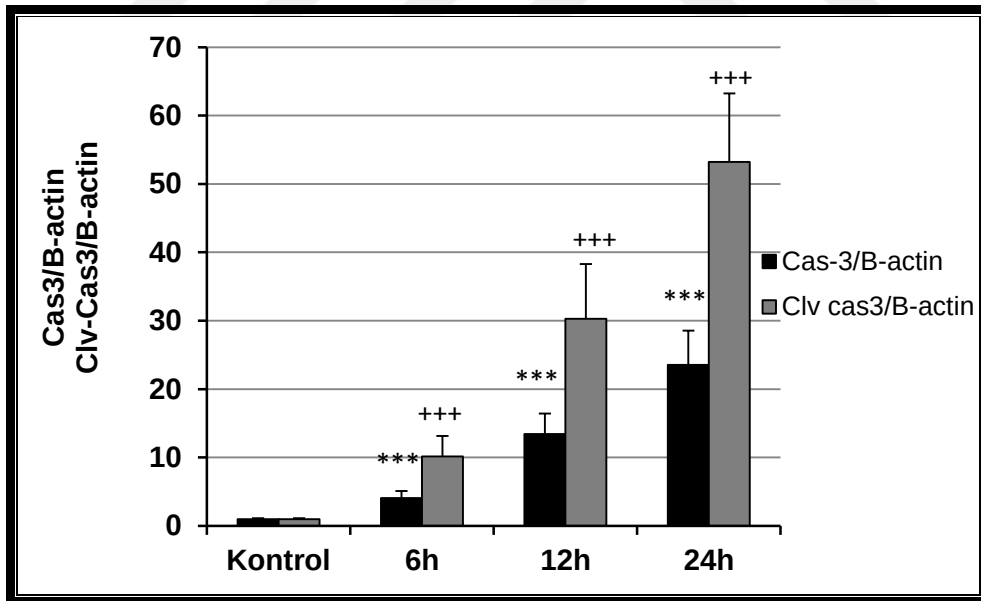
Şekil 70. 24.Saatlerdeki 10 μ M konsantraasyonlardaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki AO/EB boyaması oranı

(*** $p < 0.001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

Kaspaz-3 aktivitesi ve Kaspaz protein ekspresyonu western blot yöntemi ile analiz edilmiştir (Şekil 71-75).

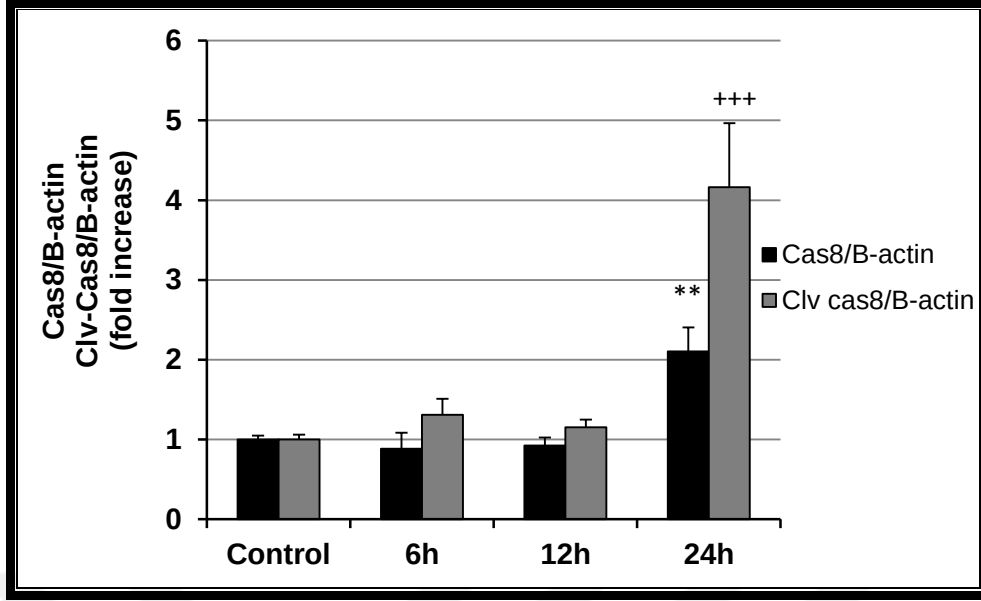


Şekil 71. 6.,12. ve 24. Saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki etodolak ve 5h bileşiğinin SKOV3 hücrelerindeki apoptotik kaspaz protein ekspresyonu western blot bandları



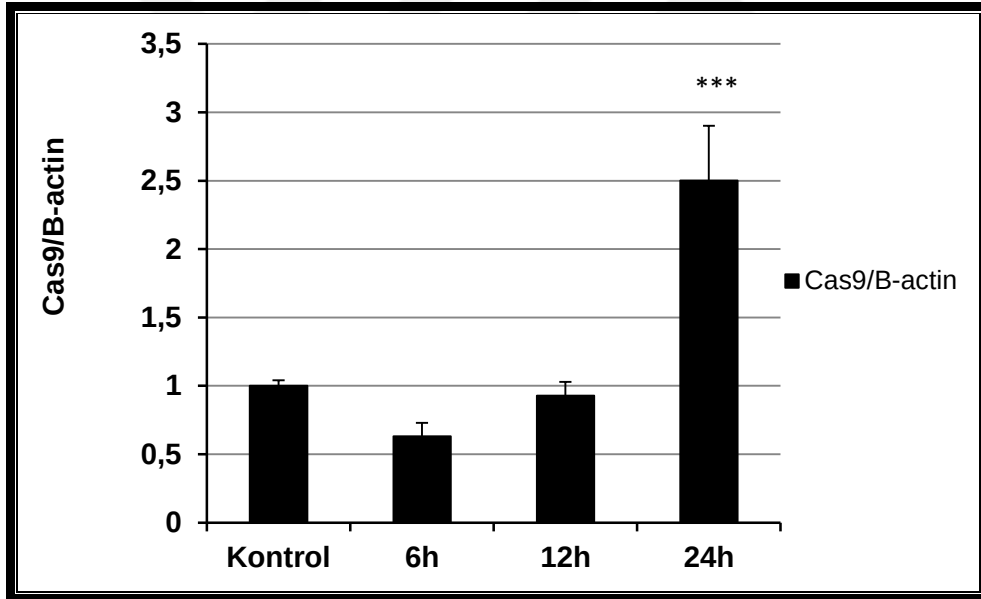
Şekil 72. Cas3/B-actin ve Clv-Cas3/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analiz

(*** $p < 0.001$ kontrol grubunun Cas3 bandlarına göre karşılaştırıldığında; +++ $p < 0.001$ kontrol grubunun Clv-Cas3 bandlarına göre karşılaştırıldığında)



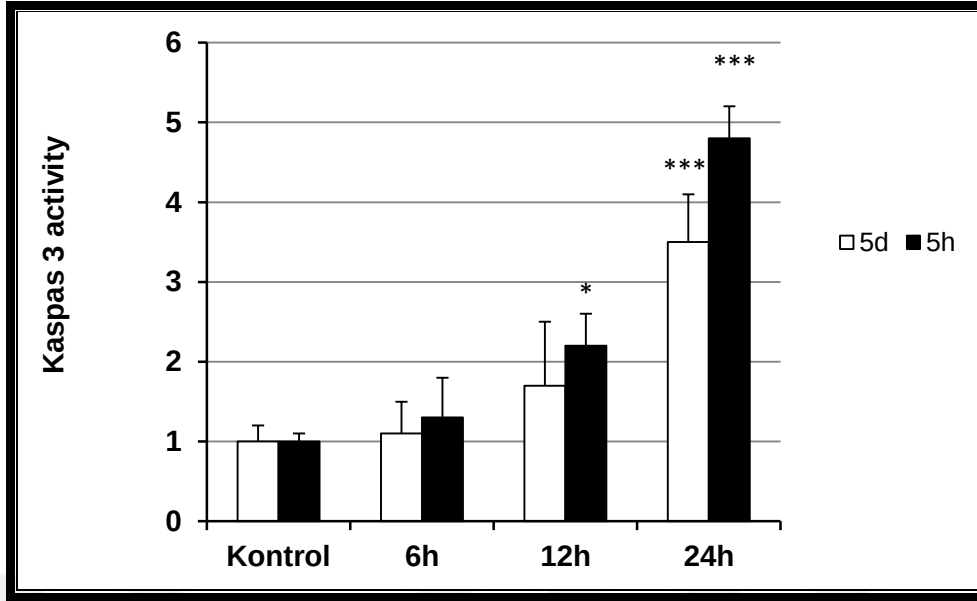
Şekil 73. 5h Bileşiğinin Cas8/B-actin ve Clv-Cas8/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analizi

(** $p < 0.01$ kontrol grubunun Cas8 bandlarına göre karşılaştırıldığında; *** $p < 0.001$ kontrol grubunun Clv-Cas8 bandlarına göre karşılaştırıldığında)



Şekil 74. Cas9/B-actin protein ekspresyonu seviyelerinin densitometri analizi

(*** $p < 0.001$ kontrol grubunun Cas9 bandlarına göre karşılaştırıldığında)



Şekil 75. 6., 12. ve 24.Saatlerdeki 10 μ M konsantrasyonlardaki etodolak, 5d ve 5h bileşiklerinin SKOV3 hücrelerindeki kaspaz3 aktivitesi

(* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ her bileşiğin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

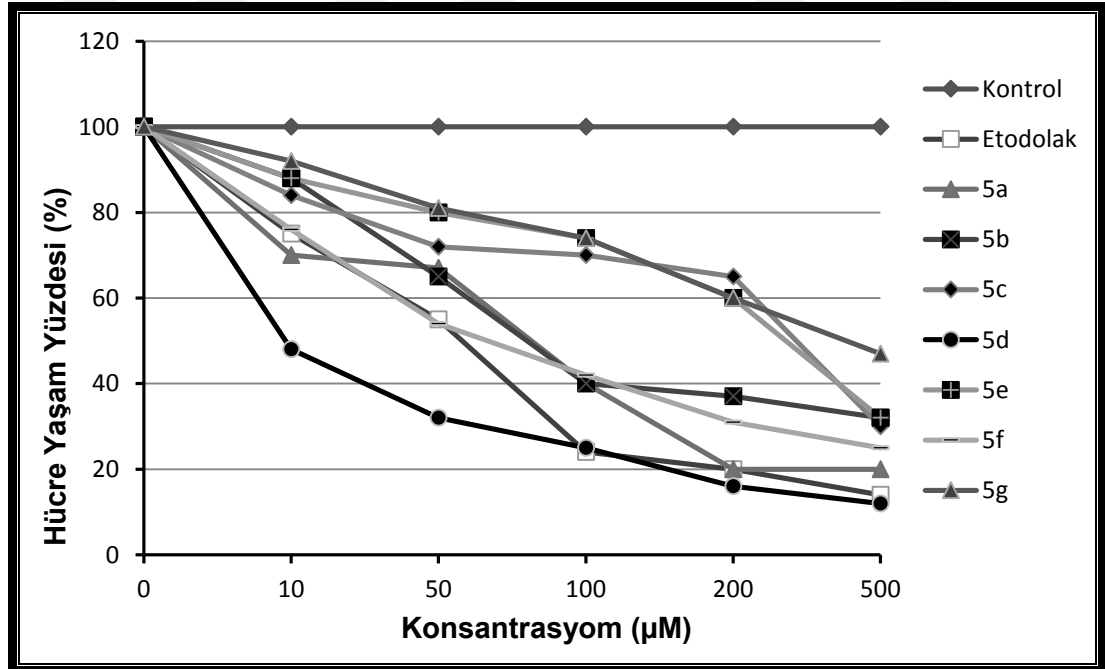
Sonuç olarak 1-{{5-(4-klorobenzil)sulfanil}-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol **[5d]** ve 1-{{5-benzilsulfanil}-4-etil-4H-1,2,4-triazol-3-il}metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol **[5h]** bileşiklerinin sırasıyla 7.22 μ M and 5.10 μ M IC_{50} değerlerinde SKOV3 hücre hatlarında antikanser aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur (**Tablo 7.**). Etodolak ile karşılaştırıldığında VERO hücrelerine karşı sitotoksitite göstermemektedirler. Bu bileşikler, ayrıca kaspaz 3, 9 ve 8 protein ekspresyonu ve 6., 12. ve 24. saatlerdeki apoptoz yolundaki aktiviteleri için değerlendirilmiştir, kanser tedavisinde anahtar rolde oldukları söylenebilir.

Tablo 7. Over kanser SKOV3 hücrelerinde 5a-v bileşiklerinin IC_{50} degerleri

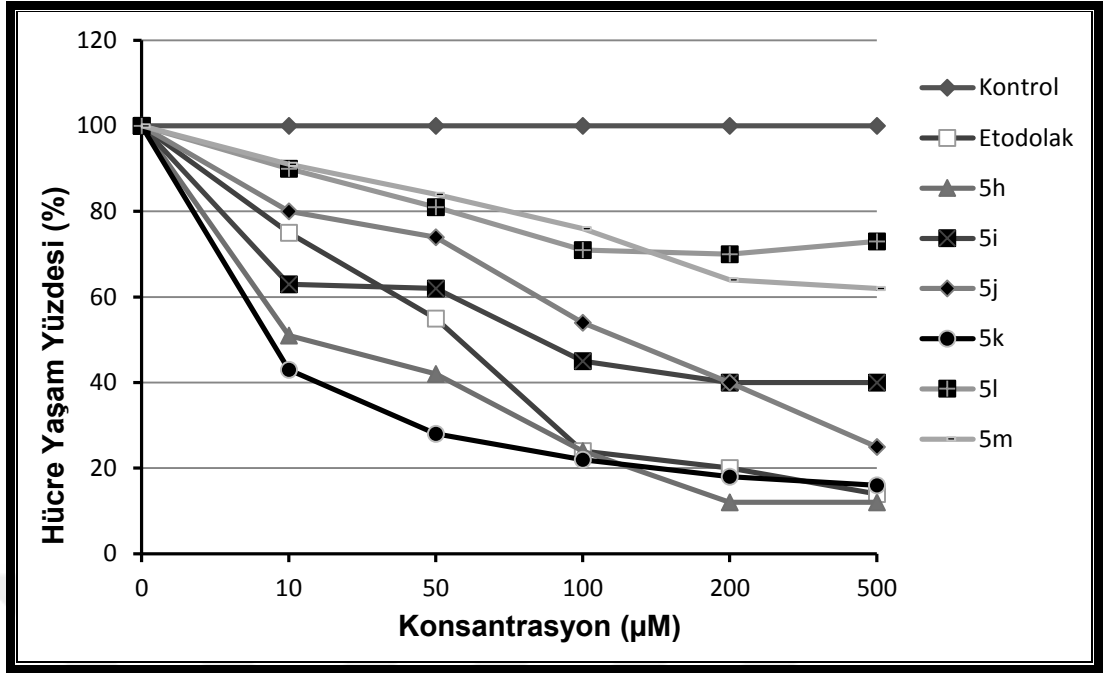
Bileşik	IC_{50} (uM)
Etodolak	9.44
5a	110.2
5b	16.00
5c	31.00
5d	7.22
5e	57.2
5f	89.2

Bileşik	IC ₅₀ (uM)
5g	246.20
5h	5.10
5i	83.8
5j	113.6
5k	6.48
5l	40.3
5m	266.9
5n	19.77
5p	27.5
5r	216.49
5s	9.03
5t	47.575
5v	11.08

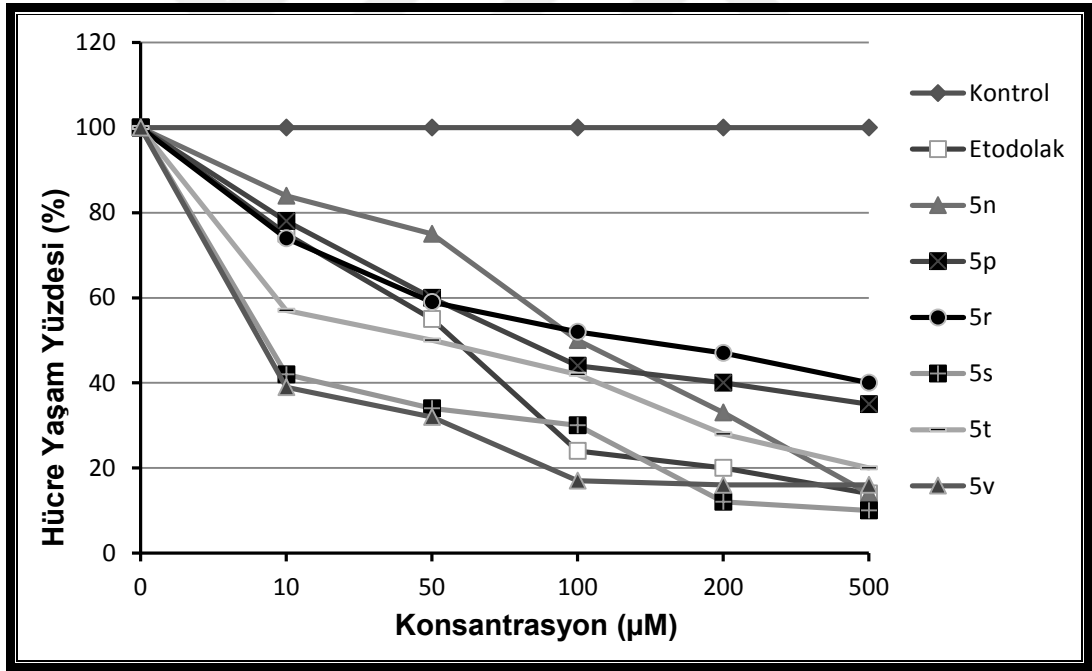
Etodolak tiyoeterlerinin [5a-v] ayrıca, PC3 (androjene bağımlı olmayan prostat kanser) hücreleri üzerinde doza bağılı sitotoksikite etkisi çalışılmıştır (Şekil 76-78). Bu çalışmayı PC-3 prostat kanserinde zamana bağılı hücre büyümesi incelenmiştir (Şekil 79.).



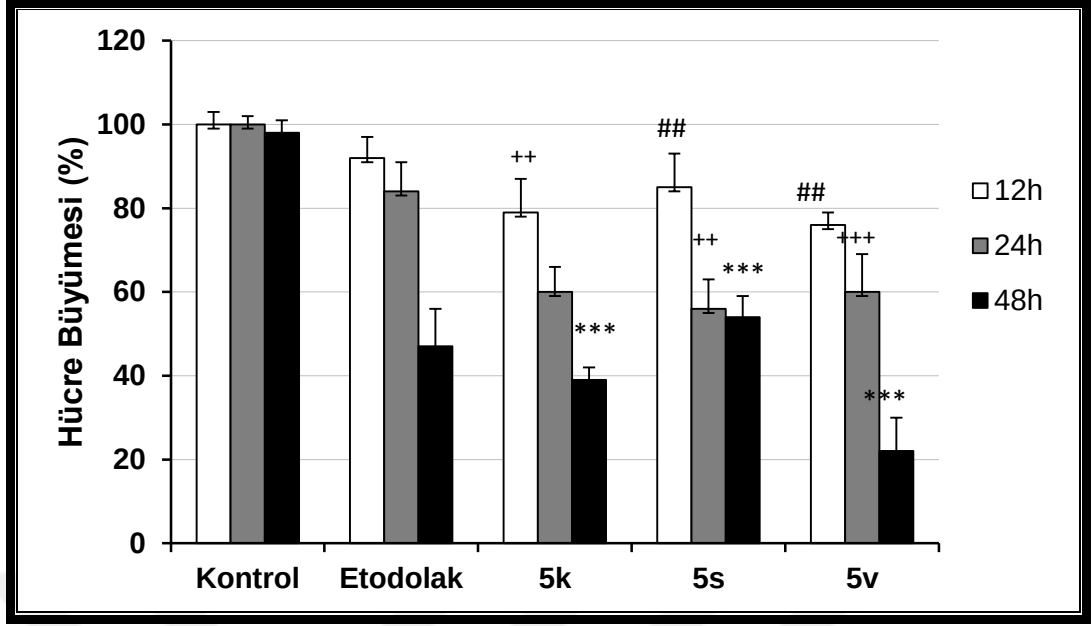
Şekil 76. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 1



Şekil 77. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 2



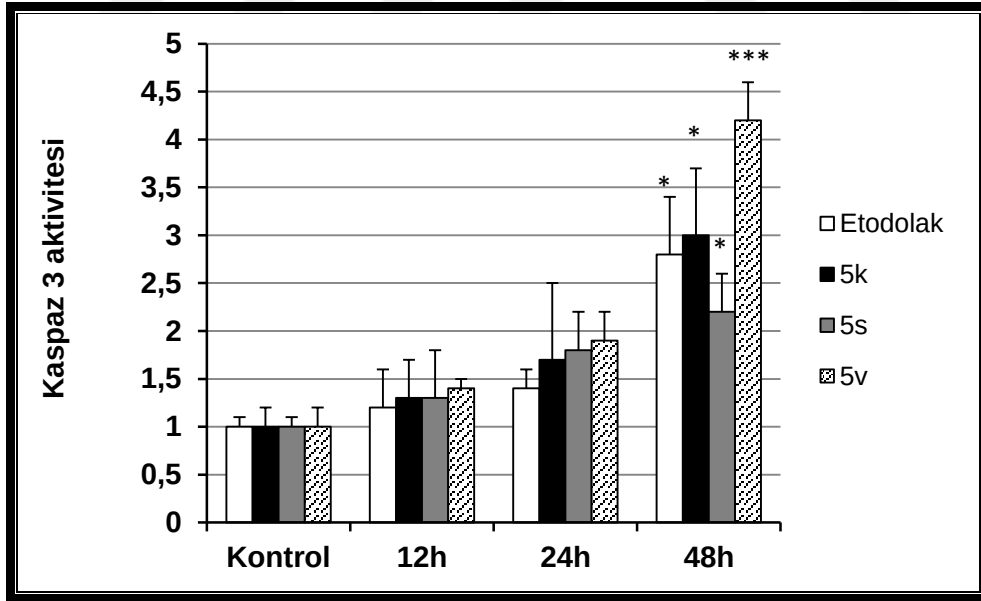
Şekil 78. 36. Saat sonunda farklı inkübe konsantrasyonlardaki etodolak ve tiyoeter bileşiklerinin [5a-v] PC3 hücre hatlarındaki hücre yaşam yüzdeleri 3



Şekil 79. 10 µM Konsantrasyondaki etodolak, 5k, 5s ve 5v bileşiklerinin 12., 24. ve 48. saatteki PC3 hücre hatlarındaki hücre büyüme yüzdeleri

(## $p < 0.01$ 12.saatte kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; ++ $p < 0.01$, +++ $p < 0.001$ 24.saatte kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *** $p < 0.001$ 48.saatte kontrol grupları ile karşılaştırıldığında)

Kaspaz-3 aktivitesi analiz edilmiştir (Şekil 80.).



Şekil 80. 12., 24. ve 48.saatlerdeki 10 µM konsantrasyonlardaki inkübe edilen etodolak, 5k, 5s ve 5v bileşiklerinin PC3 prostat kanser hücrelerindeki kaspaz3 aktivitesi

(* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ her bileşiğin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

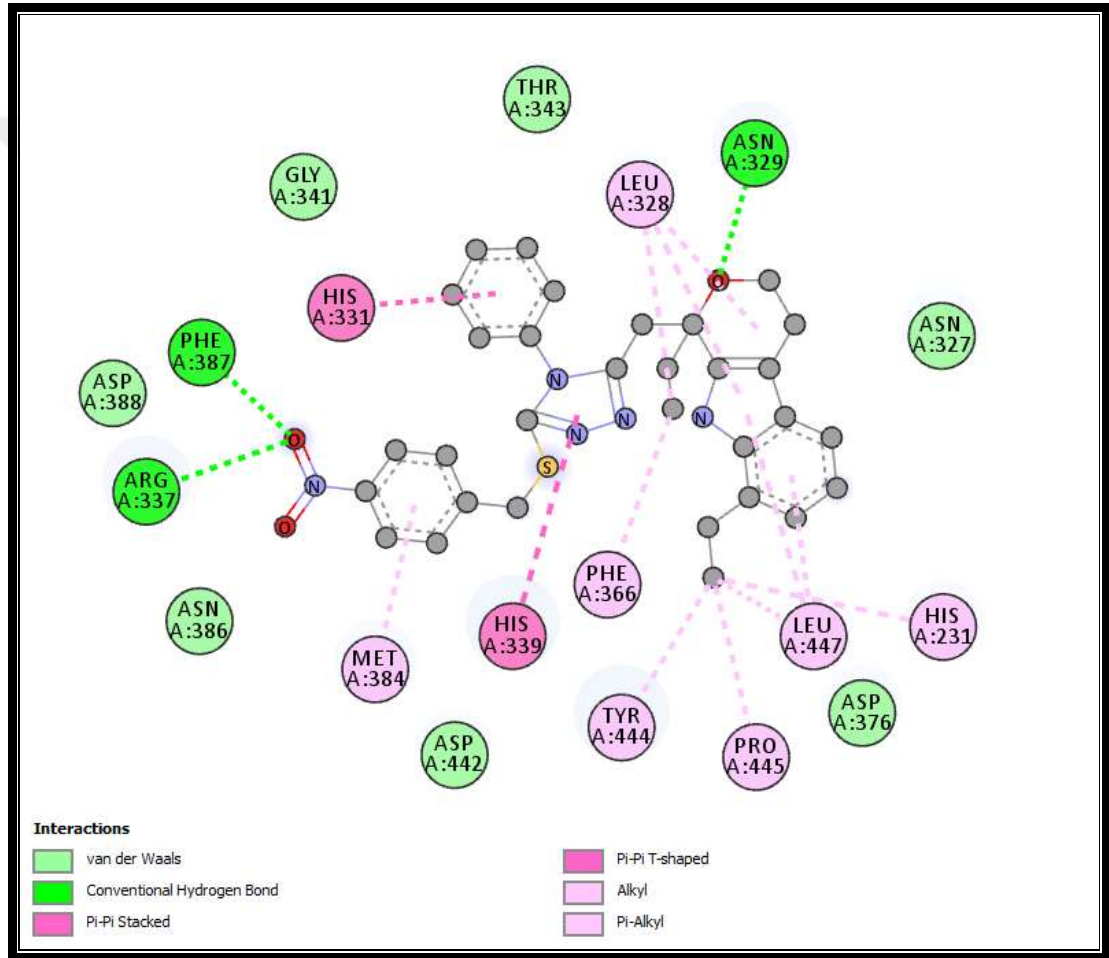
Sonuç olarak 1-{{5-(2,6-diklorobenzil)sulfanil}-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol **[5k]**, 1-{{5-(2,6-diklorobenzil)sulfanil}-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol **[5s]** ve 1-{{5-(4-nitrobenzil)sulfanil}-4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-il]metil}-1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b]indol **[5v]** bileşikleri sırasıyla 8.18 μM , 3.10 ve 4.00 μM IC_{50} değerlerinde PC3 prostat kanser hücre hatlarında antikanser aktiviteye sahiptirler (**Tablo 8.**).

Tablo 8. Prostat kanser hücre hattı PC3 üzerinde 5a-v bileşiklerinin IC_{50} değerleri

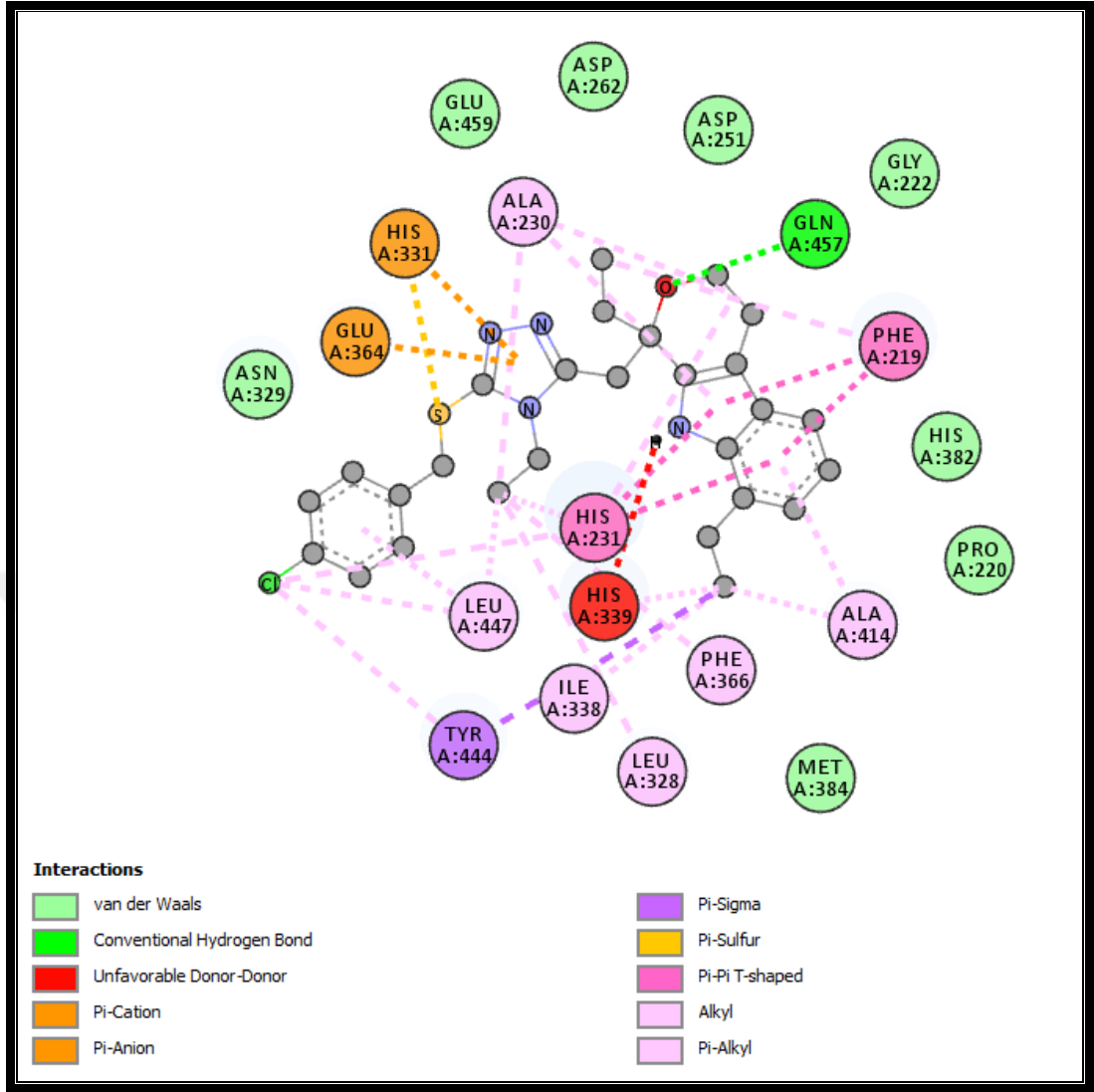
Bileşik	IC_{50} (μM)
Etodolak	20.29
5a	40.75
5b	77.97
5c	208.12
5d	11.20
5e	234.43
5f	48.83
5g	575.93
5h	15.01
5i	75.06
5j	88.79
5k	8.18
5l	ND
5m	ND
5n	62.12
5p	80.53
5r	15.05
5s	3.10
5t	28.24
5v	4.00

7.6.2. Moleküler Modelleme

Sentezlenen 19 adet bileşik, hedeflediğimiz bir makromolekül olan MetAP2 proteinine iyi bağlanma özelliği göstermektedir. Bileşikler ile bağlanma gösteren en önemli aminoasitler: HIS231, LEU328, ASN329, HIS331, HIS339, THR343, ASP376, TYR444, PRO443 ve LEU447'dir. Fenil halkasının para pozisyonunda –NO₂ grubu taşıyan bileşikler Arg337 ve Phe387 ile hidrojen bağı yapmaktadır (Şekil 81-82).



Şekil 81. 5v Bileşiğinin protein bağlanma bölgeleri



Şekil 82. 5k Bileşiğinin moleküler modelleme çalışması

Docking çalışması neticesinde $\Delta G = -11.21$ kcal/mol ve $K_i = 6.10$ nM değerleri ile **5k** bileşiği, $\Delta G = -11.02$ kcal/mol ve $K_i = 8.36$ nM değerleri ile **5s** bileşiği, $\Delta G = -11.02$ kcal/mol ve $K_i = 7.27$ nM değerleri ile **5v** bileşiği en iyi inhibitörler olarak bulunmuştur (**Tablo 9.**).

Tablo 9. 5a-v Bileşiklerinin Modelleme Çalışması

AutoDock 4.2.6		
Bileşik	ΔG (kcal/mol)	K_i (nM)
5a	-9.20	179.32
5b	-8.82	345.21
5c	-9.06	227.02
5d	-9.52	104.89
5e	-9.90	55.30

AutoDock 4.2.6		
Bileşik	ΔG (kcal/mol)	Ki (nM)
5f	-9.39	129.97
5g	-8.45	639.86
5h	-9.06	227.39
5i	-9.09	216.94
5j	-9.31	150.68
5k	-11.21	6.10
5l	-9.83	62.05
5m	-9.73	74.16
5n	-10.42	23.18
5p	-10.35	26.03
5r	-10.79	12.41
5s	-11.02	8.36
5t	-10.82	11.64
5v	-11.02	7.27

8. SONUÇ

Pirano[3,4-*b*]indol yapısı içeren karboksilli asit türevi olan 1985'den beri seçici COX-2 inhibitörü etodolak, analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri olan streoit yapısında olmayan bir etken maddedir. İndol yapısı, yeni ilaç adaylarının geliştirilmesinde özellikle antikanser etkinlik göstermesi açısından önemlidir. İndol temelli farmakoforlar, indol türevlerinin antikanser ajanlara kayda değer şekilde cevap vermesi dolayısıyla yapısal modifikasyonlarda araştırmacılar arasında en çok tercih edilen yapılar olmaktadır. Sentez başlangıç maddesi olarak etodolak etken maddesini seçilmesindeki başlıca neden gösterdiği antikanser etkinliktir.

Sentezlenmiş olan etodolak tiyoeterler türevlerinin spektroskopik ve elemental analiz yöntemleriyle yapıları aydınlatılmıştır.

Etodolak türevlerinin antikanser etkinlikleri VERO (maymun böbrek kanseri), HEPG2 (insan karaciğer kanseri), SKOV3 (insan yumurtalık kanseri), MCF7 (insan göğüs kanseri) ve PC3 (insan prostat kanseri) hücre hatlarında taranmıştır. Bu bileşikler içinden **5d** ve **5h** bileşikler sırasıyla 7.22 μM and 5.10 μM IC_{50} değerlerinde SKOV3 hücre hatlarında, **5k**, **5s** ve **5v** bileşikler ise sırasıyla 8.18 μM , 3.10 ve 4.00 μM IC_{50} değerlerinde PC3 hücre hatlarında antikanser aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. Bu bulguları destekler biçimde MetAP2 enzimi ile yapılan moleküler modelleme çalışması ile $\Delta G = -11.21$ kcal/mol ve $K_i = 6.10$ nM değerleri ile **5k** bileşiği, $\Delta G = -11.02$ kcal/mol ve $K_i = 8.36$ nM değerleri ile **5s** bileşiği, $\Delta G = -11.02$ kcal/mol ve $K_i = 7.27$ nM değerleri ile **5v** bileşiği en iyi MetAP2 inhibitörleri olarak bulunmuştur.

9. KAYNAKLAR

Alanazi AM, Al-Suwaidan IA, Abdel-Aziz AAM, Mohamed MA, El_Morsy AM, El-Azab AS. Design, synthesis and biological evaluation of some novel substituted 2-mercapto-3-phenethylquinazolines as antitumor agents. *Med Chem Res.* 2013; 22: 5566 – 5577.

Al-Soud Y, Al-Dweri MN, Al-Masoudi NA. Synthesis, antitumor and antiviral properties of some 1,2,4-triazole derivatives. *Il Farmaco*, 2004; 59: 775 – 783.

Al-Soud Y, Al-Masoudi NA, Ferwanah Abd El-Rahman S. Synthesis and properties of new substituted 1,2,4-triazoles: potential antitumor agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2003; 11: 1701-1708.

Arfin SM, Kendall RL, Hall L, Weaver LH, Stewart AE, BW Matthews. Eukaryotic methionine aminopeptidase: Two classes of cobaltdependent. *Enzymes Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92: 7714–7718.

Baek SH, Kim YO, Kwag JS, Choi KE, Jung WY, Han DS. Boron trifluoride etherate on silica-A modified Lewis acid reagent (VII). Antitumor activity of cannabigerol against human oral epitheloid carcinoma cells. *Arch Pharm Res.* 1998; 21: 353-356.

Basile L, Alvarez S, Blanco A, Santagati A, Granata G, Di Pietro P, Guccione S, Munoz-Fernandez AM. Sulfonilamidothiopyrimidone and thiopyrimidone derivatives as selective COX-2 inhibitors: Synthesis, biological evaluation, and docking studies. *Eur J Med Chem.* 2012; 57: 149 – 161.

Bera H, Lee MH, Sun L, Dolzhenko AV, Chui WK. Synthesis, anti-tymidine phosphohorylase activity and molecular docking of 5-thioxo-[1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-7-ones. *Bioorg Chem.* 2013; 50: 34 – 40.

Bradshaw RA, Yi E. Methionine aminopeptidase and angiogenesis. *Essay in Biochem.* 2002; 38: 65-78.

Chang YH, Teichert U, Smith JA. Molecular cloning, sequencing, deletion, and overexpression of a methionine aminopeptidase gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem.* 1992; 267: 8007–8011.

Cichero E, Buffa L, Fossa P. 3,4,5-trisubstituted-1,2,4-triazoles as WT and Y188L mutant HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: docking-based CoMFA and CoMSIA analyses. *J Mol Model.* 2011; 17: 1537 – 1550.

Contour-Galcerà M, Sidhu A, Plas P, Roubert P. 3-Thio-1,2,4-triazoles, novel somatostatin sst₂/sst₅ agonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005; 15: 3555 – 3559.

Courtens AM, Stevens FCJ, Crebolder HFJM, Philipsen H. Longitudinal study on quality of life and social support in cancer patients. *Cancer Nurs.* 1996; 19 (3): 162 - 169.

Çıkla P, Arora P, Basu A, Talele Tanaji T, Kaushik-Basu N, Küçükgülzel ŞG. Etodolac Thiosemicarbazides: a novel class of hepatitis C virus NS5B polymerase inhibitors. *Marmara Pharm J.* 2013; 17: 138 – 146.

Çıkla P, Özşavcı D, Bingöl-Özarkınar Ö, Şener A, Çevik Ö, Özbaş-Turan S, Akbuğa J, Şahin F, Küçükgülzel ŞG. Synthesis, cytotoxicity, and pro-Apoptosis Activity of etodolac hydrazide derivatives as anticancer agents. *Arch Pharm.* 2013; 346(5): 367 – 379.

Çıkla-Süzgün P, Kaushik-Basu N, Basu A, Arora P, Talele TT, Durmaz I, Çetin-Atalay R, Küçükgülzel ŞG. Anti-Cancer and Anti-Hepatitis C virus NS5B polymerase activity of Etodolac 1,2,4-Triazoles. *J Enzyme Inh and Med Chem.* 2015; 30(5): 778 – 785.

Datta B, Datta R. Induction of apoptosis due to lowering the level of eukaryotic initiation factor 2-associated protein, p67, from mammalian cells by antisense approach. *Exp Cell Res.* 1999; 246: 376–383.

Datta R, Choudhury P, Ghosh A, Datta B. A glycosylation site, ⁶⁰SGTS₆₃, of p67 is required for its ability to regulate the phosphorylation and activity of eukaryotic initiation factor 2 alpha. *Biochem.* 2003; 42: 5453–5460.

Doğan HN, Duran A, Rollas S. Synthesis and preliminary anticancer activity of new 1H-4,5-dihydro-3-(3-hydroxy-2-naphthyl)-4-substituted-1,2,4-triazoline-5-thiones. *Indian J Chem.* 2005; B 44: 2301 – 2307.

D'souza VM, Holz RC. The methionyl aminopeptidase from *Escherichia coli* can function as an iron(II) enzyme. *Biochem* 1999; 38: 11079–11085.

Du Qian-Ru, Li Dong-Dong, Pi Ya-Zhou, Li Jing-Ran, Sun J, Fang F, Zhong Wei-Qing, Gong Hai-Bin, Zhu Hai-Liang. Novel 1,3,4-oxadiazole thioether derivatives targeting thymidylate synthase as dual anticancer/antimicrobial agents. *Bioorg Med Chem.* 2013; 21(8): 2286 – 2297.

El-Emam AA, Ibrahim TM. Synthesis and anti-inflammatory and analgesic activity of some 3-(1-adamantyl)-4-substituted-5-mercapto-1,2,4-triazoles. *Arzneim Forsch Drug Res* 1991; 41(II), Nr.12: 1260 – 1264.

Fargaly AR, El-Kashef H. Synthesis of some new azoles with antiviral potential. *Arkivoc.* 2006; (xi): 76 – 90.

Ferdinandi ES, Sehgal SN, Demerson CA, Dubuc J, Zilber J, Dvornik D, Cayen MN. Disposition and biotransformation of ¹⁴C-etodolac in man. *Xenobiotica.* 1986; 16(2): 153–166.

Garrabrant T, Tuman RW, Ludovici D, Tominovich R, Simoneaux RL., Galemme RA., Johnson DL. Small molecule inhibitors of methionine aminopeptidase type 2 (MetAP-2) fail to inhibit endothelial cell proliferation or formation of microvessels from rat aortic rings in vitro. *Angiogenesis*. 2004; 7: 91 - 96.

Ghorab MM, Al-Said MS. Synthesis and antitumor activity of some novel hydrazide, 1,2-dihydropyridine, chromene, and benzochromene derivatives. *J Heterocycl Chem*. 2011; 49(2): 272 – 280.

Giachetti C, Assandri A, Zanollo G, Brembilla E. Gas chromatography-mass spectrometry determination of etodolac in human plasma following single epicutaneous administration. *Biomed Chromatogr*. 1994; 8(4): 180–183.

Gopalsamy A, Lim K, Ciszewski G, Park K, Ellingboe JW, Bloom J, Insaf S, Upeslakis J, Mansour TS, Krishnamurthy G, Damarla M, Pyatski Y, Ho D, Howe AYM, Orlowski M, Feld B, O'Connell J. Discovery of pyrano[3,4-b]indoles as potent and selective HCV NS5B polymerase inhibitors. *J Med Chem*. 2004; 47: 6603 – 6608.

Gopalsamy A, Shi M, Ciszewski G, Park K, Ellingboe JW, Orlowski M, Feld B, Howe AYM. Design and synthesis of 2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazole and 1,2,3,4-tetrahydro-cyclopenta[b]indole derivatives as non-nucleoside inhibitors of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase. *Bioorg Med Chem Lett*. 2006; 16, 2532 – 2534.

Grandi Di M, Olson M, Prashad AS, Bebernitz G, Luckay A, Mullen S, Hu Y, Krishnamurthy G, Pitts K, O'Connell J. Small molecule inhibitors of HIV RT Ribonuclease H. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010; 20: 398 – 402.

Harper S, Pacini B, Avolio S, Di Filippo M, Migliaccio G, Laufer R, De Francesco R, Rowley M, Narjes F. Development and preliminary optimization of

indole-N-acetamide inhibitors of hepatitis C virus NS5B polymerase. *J Med Chem.* 2005; 48 (5), 1314 – 1317.

Henneman SA., Kohn FS. Methylene blue staining of tissue culture monolayers. *TCA manual / Tissue Culture Association*, June 1975; 1(2): 103–104

Hou Ya-P, Sun J, Pang Zhong-H, Lv Peng-C, Li Dong-D, Yan L, Zhang Hong-J, Zheng Emily X, Zhao J, Zhu Hai-L. Synthesis and antitumor activity of 1,2,4-triazoles having 1,4-benzodioxane fragment as novel class of potent methionine aminopeptidase type II inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2011; 19: 5948 – 5954.

Jaeschke H., Fisher MA, Lawson JA, Simmons CA, Farhood A, Jones DA. Activation of Caspase 3 (CPP32)-like proteases is essential for TNF- α -induced hepatic parenchymal cell apoptosis and neutrophil-mediated necrosis in a murine endotoxin shock model. *J Immunol* 1998; 160(7): 3480–3486.

Klimesova V, Zahajska L, Waisser Karel, Kaustova Jarmila, Möllmann Ute. Synthesis and antimycobacterial activity of 1,2,4-triazole-3-benzylsulfanyl derivatives. *Il Farmaco.* 2004; 59: 279–288.

Kobayashi M, Nakamura S, Shibata K, Sahara N, Shigeno K, Shinjo K, Naito K, Ohnishi K. Etodolac inhibits *EBER* expression and induces Bcl-2-regulated apoptosis in Burkitt's lymphoma cells. *Eur J Haematol.* 2005; 75(3): 212 – 220.

Kothari PJ, Mehlhoff MA, Singh SP, Parmar SS, Stenberg VI. Synthesis of 5-(1-naphthylmethyl)-4-aryl-s-triazol-3-thiols/ylthioglycolic acids as possible anti-inflammatory agents. *J Heterocyclic Chem.* 1980; 17: 1369 – 1372.

Kumbhare RM, Kosurkar UB, Ramaiah MJ, Dadmal Tulshiram L, Pushpavalli SNCVL, Pal-Bhadra M. Synthesis and biological evaluation of novel triazoles and isoxazoles linked 2-phenyl benzothiazole as potential anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2012; 22: 5424 – 5427.

Küçükgülzel İ, Küçükgülzel ŞG, Rollas S, Kiraz M. Some 3-thioxo/alkylthio-1,2,4-triazoles with a substituted thiourea moiety as possible antimycobacterials. *Bioorg Med Chem Lett*. 2001; 11(13): 1703 – 1707.

Küçükgülzel İ, Küçükgülzel ŞG, Rollas S, Ötük-Saniş G, Özdemir O, Bayrak İ, Altuğ T, Stables JP. Synthesis of some 3-(arylalkylthio)-4-alkyl/aryl-5-(4-aminophenyl)-4H-1,2,4-triazole derivatives and their anticonvulsant activity. *Il Farmaco*. 2004; 59(11): 893 – 901.

Küçükgülzel ŞG, Çıkla-Süzgün P. Recent advances in bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur J Med Chem*. 2015; 97 830–870.

Küçükgülzel ŞG, Coşkun GP. Macromolecular Drug Targets in Cancer Treatment and Thiosemicarbazides as Anticancer Agents. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; in print.

Küçükgülzel ŞG, Küçükgülzel İ, Tatar E, Rollas S, Şahin F, Güllüce M, De Clercq E, Kabasakal L. Synthesis of some novel heterocyclic compounds derived from diflunisal hydrazide as potential anti-infective and anti-inflammatory agents. *Eur J Med Chem*. 2007; 42: 893 – 901.

Li YD, Mao WT, Fan, ZJ, Li JJ, Fang Z, Ji XT, Hua XW, Zong GN, Li FY, Liu CL, Yu JH Synthesis and biological evaluation of novel 1,2,4-triazole containing 1,2,3-thiadiazole derivatives. *Chin Chem Lett*. 2013; 24: 1134 – 1136.

Li Z, Cao Y, Zhan P, Pannecouque C, Balzarini J, Clercq ED, Liu X. Synthesis and anti-HIV evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives as potential non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase Inhibitors. *Lett Drug Des Discov*. 2013; 10(1): 27 – 34.

Lowther WT, Matthews BW. Structure and function of the methionine aminopeptidases, *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1477: 157–167.

Luo Y, Zhang S, Liu ZJ, Chen W, Fu J, Zeng QF, Zhu HL. Synthesis and antimicrobial evaluation of novel class of 1,2,4-triazole: Derivatives bearing 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine moiety. *Eur J Med Chem.* 2013; 64: 54 – 61.

Magari H, Shimizu Y, Inada K, Enomoto S, Tomeki T, Yanaoka K, Tamai H, Arii K, Nakata H, Oka M, Utsunomiya H, Tsutsumi Y, Tsukamoto T, Tatematsu M, Ichinose M. Inhibitory effect of etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on stomach carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 334(2): 606 – 612.

Mishima K, Nariai Y, Yoshimura Y. Etodolac, a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor, enhances carboplatin-induced apoptosis of human tongue carcinoma cells by down-regulation of FAP-1 expression. *Oral Oncol.* 2005; 41(1): 777 – 781.

Mohammadhosseini N, Asadipour A, Letafat B, Vosooghi M, Siavoshi F, Shafiee Abbas, Foroumadi A. Synthesis and in vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of 2-(substituted benzylthio)-5-(5-nitro-2-furyl)-1, 3, 4-thiadiazole derivatives. *Turk J Chem.* 2009; 33: 471 – 478.

Murata S, Adachi M, Kioi M, Torigoe S, Ijichi K, Hasegawa Y, Ogawa T, Bhayani MK, Lai SY, Mitsudo K, Tohnai I. Etodolac improves 5-FU sensitivity of head and neck cancer cells through inhibition of thymidylate synthase. *Anticancer Res.* 2011; 31(9): 2893 – 2898.

Murty MSR, Ram KR, Rao BR, Rao RV, Katiki MR, Rao JV, Pamanji R, Velatooru LR. Synthesis, characterization, and anticancer studies of S and N alkyl piperazine-substituted positional isomers of 1,2,4-triazole derivatives. *Med Chem Res.* 2014; 23: 1661–1671.

Nakamura S, Kobayashi M, Shibata K, Sahara N, Shigeno K, Shinjo K, Naito K, Hayashi H, Ohnishi K. Etodolac induces apoptosis and inhibits cell adhesion to

bone marrow stromal cells in human myeloma cells. *Leuk Res.* 2006; 30: 123 – 135.

Nittoli T, Curran K, Insaf S, DiGrandi M, Orlowski M, Chopra R, Agarwal A, Howe AYM, Prashad A, Floyd MB, Johnson B, Suherland A, Wheless K, Feld B, O'Connell J, Mansour TS, Bloom J. Identification Of Anthranilic Acid Derivatives As A Novel Class Of Allosteric Inhibitors Of Hepatitis C NS5B Polymerase. *J Med Chem.* 2007; 50(9): 2108 – 2116.

Okamoto A, Shirakawa T, Bito T, Shigemura K, Hamada K, Gotoh A, Fujisawa M, Kawabata M. Etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces upregulation of e-cadherin and has antitumor effect on human bladder cancer cells in vitro and in vivo. *J Urol.* 2008; 71(1): 156 – 160.

Ounyang X, Chen X, Piatnitski E.L, Kiselyov A.S, He H, Mao Y, Pattaropong V, Yu Y, Kim K.H, Kincaid J, Smith II L, Wong W.C, Lee S.P, Milligan D.L, Malikzay A, Fleming J, Gerlak J, Deevi D, Doody J.F, Chiang H, Patel S.N, Wang Y, Rolser R.L, Kussie P, Labelle M, Tuma M.C. Synthesis and structure-activity relationships of 1,2,4-triazoles as novel class of potent tubulin polymerization inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005; 15: 5154 – 5159.

Panathur N, Dalimba U, Koushik PV, Alvala M, Yogeeswari P, Sriram D, Kumar V. Identification and characterization of novel indole based small molecules as anticancer agents through SIRT1 inhibition. *Eur J Med Chem,* 2013; 69: 125 – 138.

Patel RV, Park SW. Access to a new class of biologically active quinoline based 1,2,4-triazoles. *Eur J Med Chem.* 2014; 71: 24–30.

Popiolek L, Kosikowska U, Mazur L, Dobosz M, Malm A. Sythesis and antimicrobial evaluation of some novel 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. *Med Chem Res* (2013); 22: 3134 – 3147.

Puglisi A, Rizzarelli E, Vecchio G, Iacovino R, Benedetti E, Pedone C, Saviano M. Crystal and Molecular structure of β -cyclodextrin functionalized with the anti-inflammatory drug etodolac. *Biopolymers*. 2009; 91(12): 1227–1235.

Purohit NM, Panjamurthy K, Elango S, Hebbar K, Mayur YC, Raghavan Sathees C. In-vitro cytotoxicity and cell cycle analysis of two Novel bis-1, 2, 4-triazole derivatives: 1,4-bis[5-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl-methyl)-thio-4-(p-Tolyl)-1,2,4-triazol-3-yl]-butane (mnp-14) and 1,4-bis[5-(carbethoxy-methyl)-thio-4-(p-ethoxy phenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]-butane (mnp-16). *Nucleos, Nucleot Nucleic Acids*. 2011; 30: 873 – 885.

Ram VJ, Dube V, Pieters LAC, Vlietinck AJ. Chemotherapeutical Agents IX. Synthesis and pesticidal activities of bis[4-aryl/alkyl-1,2,4-triazoline-5-thione-3-yl]alkanes and 1-Aryl/alkyl-3-[4-(4-aryl/alkyl-1,2,4-triazoline-5-thione-3-yl)phenyl]thiourea and related compounds. *J Heterocyclic Chem*. 1989; 26: 625 – 628.

Ram VJ, Vlietinck AJ. Chemotherapeutical Agents VII. Synthesis and pesticidal activities of sulphides and sulphones derived from bis-(4-aryl-1,2,4-triazoline-5-thione-3-yl)alkane and 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione. *J Heterocyclic Chem*. 1988; 25: 253 – 256.

Rollas S. Bazı 1-aroil-4-alkil/ariltiyosemikarbazidler I. *Doğa Bilim Dergisi, Tıp*. 1983; Cilt 7: 65 – 73.

Rostom SAF, Ashour HMA, Abd El Razik HA. Synthesis and biological evaluation of some novel polysubstituted pyrimidine derivatives as potential antimicrobial and anticancer agents. *Arch Pharm Chem Life Sci*. 2009; 342: 299 – 310.

Selvakumar P, Lakshmikuttyamma A, Das U, Pati HN, Dimmock JR, Sharma RK. NC2213: A novel methionine aminopeptidase 2 inhibitor in human colon cancer HT29 cells. *Molecular Cancer*. 2009; 8: 65.

Shao KP, Zhang XY, Chen PJ, Xue DQ, He P, Ma LY, Zheng JX, Zhang QR, Liu HM. Synthesis and biological evaluation of novel pyrimidine–benzimidazol hybrids as potential anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014; 24: 3877–3881.

Sheen IS, Jeng KS, Jeng WJ, Jeng CJ, Wang YC, Gu SL, Tseng SY, C.M. Chu, Lin CH, Chang KM. Fumagillin treatment of hepatocellular carcinoma in rats: an in vivo study of antiangiogenesis. *World J Gastroenterol*. (2005); 11: 771–777.

Shigemura K, Shirakawa T, Wada Y, Kamidono S, Fujisawa M, Gotoh A. Antitumor effects of etodolac, a selective cyclooxygenase-II inhibitor, against human prostate cancer cell lines in vitro and in vivo. *J Urolog*. 2005; 66: 1239 – 1244.

Stansfield I, Pompei M, Conte I, Ercolani C, Migliaccio G, Jairaj M, Giuliano C, Rowley M, Narjes F. Development of carboxylic acid replacements in indole-N-acetamide inhibitors of hepatitis C virus NS5B polymerase. *Bioorg Med Chem Lett*. 2007; 17: 5143 – 5149.

Stanzke K, Tuzimski T, Rzymowska J, Pasternak K, Kandefer-Szerszeń. Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives. *Eur J Med Chem*. 2008; 43(2): 404 – 419.

Sun GX, Yang MY, Shi YX, Sun ZH, Liu XH, Wu HK, Li BJ, Zhang YG. Microwave Assisted Synthesis, Antifungal Activity and DFT Theoretical Study of Some Novel 1,2,4-Triazole Derivatives Containing Pyridine Moiety. *Int J Mol. Sci*. 2014; 15: 8075 – 8090.

Thiago Leandro de S, Sobral da Costa E, Lopes Daiana V, Borojevic R. Racemic Etodolac is cytotoxic and cytostatic for B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells. *Biomed Pharmacother.* 2009; 63: 548 – 551.

Thore SN, Gupta SV, Baheti KG. Docking, synthesis, and pharmacological investigation of novel substituted thiazole derivatives as non-carboxylic, anti-inflammatory, and analgesic agents. *Med Chem Res* 2013; 22: 3802 – 3811.

Tu G, Yan Y, Chen X, Lv Q, Wang J, Li S. Synthesis and antiproliferative assay of 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole derivatives in cancer cells. *Drug Discov Ther.* 2013; 7(2): 58 – 65.

Ulusoy N, Çapan G, Ergenç N, Ekinçi AC, Vidin A. Synthesis and characterization and anticonvulsant activity of new 4-thiazolidinone and 1,2,4-triazole-3-thiones derivatives. *Acta Pharm Turc.* 1998; 1: 5 – 8.

Walker KW, Bradshaw RA. Yeast methionine aminopeptidase I can utilize either Zn^{2+} or Co^{2+} as a cofactor: a case of mistaken identity?. *Protein Sci.* 1998; 7: 2684–2687.

Wang J, Sheppard GS, Lou P, Kawai M, Park C, Egan DA, Schneider A, Bouska J, Lesniewski R, Henkin J. Physiologically relevant metal cofactor for methionine aminopeptidase-2 is manganese. *Biochem.* 2003; 42: 5035–5042.

Yao J, Chen J, He Z, Sun W, Fang H, Xu W. Thiourea and thioether derivatives of sorafenib: synthesis, crystal structure, and antiproliferative activity. *Med Chem Res.* 2013; 22: 3959 – 3968.

Zamani K, Faghihi K, Sangi MR, Zolgharnein J. Sythesis of some new substituted 1,2,4-triazole ad 1,3,4-thiadiazole and their derivatives. *Turk J Chem.* 2003; 27: 119-125.

Zamani K, Faghihi K, Tofighi T, Shariatzadeh MR. Synthesis and antimicrobial activity of some pyridyl and naphthyl substituted 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. Turk J Chem. 2004; 28: 95 – 100.

Zhang YB, Liu W, Yang YS, Wang XL, Zhu HL, Bai LF, Qiu XY. Synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of 1,2,4-triazole derivatives containing pyridine as potential anti-tumor agents. Med Chem Res. 2013; 22: 3193–3203.

Zhao Pei-L, Ma Wei-F, Duan An-N, Zou M, Yan Yi-C, You Wen-W, Wu Shu-G. One-pot synthesis of novel isoindoline-1,3-dione derivatives bearing 1,2,4-triazole moiety and their preliminary biological evaluation. Eur J Med Chem. 2012; 54: 813 – 822.

Zuo S, Guo Q, Ling C, Chang YH. Evidence that two zinc fingers in the methionine aminopeptidase from *Saccharomyces cerevisiae* are important for normal growth, Mol GenGenet. 1995; 246: 247–253.

10. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	IŞIL	Soyadı	ÇORUH
Doğum Yeri	Kadıköy	Doğum Tarihi	26.12.1983
Uyruğu	T.C.	Tel	0535 645 43 45
E-mail	isil.coruh@monrol.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	M.Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	2016
Yüksek Lisans	M.Ü. Eczacılık Fak. Farmasötik Kimya Anabilim Dalı	2011
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü (İngilizce)	2007
Lise	Üsküdar Anadolu Lisesi (Almanca)	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Arge Uzmanı	Eczacıbaşı Monrol Nükleer Ürünler San. ve Tic. A.Ş.	2015 - Devam
	Arge Analitik Uzmanı	Onko İlaç San. ve Tic. A.Ş.	2011 - 2015

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok İyi
Almanca	Çok İyi	İyi	Çok İyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	80.027	79.819	78.720
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin