



**TAMOKSİFENİN MODİFİKASYONU: TASARIM,
SENTEZ VE BİYOLOJİK DEĞERLENDİRME**

Berrak ERTUĞRUL

**Doktora Tezi
Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU
Kimya Ana Bilim Dalı
Organik Kimya Bilim Dalı
2023**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA BÖLÜMÜ

**TAMOKSİFENİN MODİFİKASYONU: TASARIM, SENTEZ VE BİYOLOJİK
DEĞERLENDİRME**

(Modification of Tamoxifen: Design, Synthesis, and Biological Assessment)

DOKTORA TEZİ

Berrak ERTUĞRUL

Danışman: Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU

Erzurum
Haziran, 2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**TAMOKSİFENİN MODİFİKASYONU: TASARIM, SENTEZ ve BİYOLOJİK
DEĞERLENDİRME**

Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU danışmanlığında, Berrak ERTUĞRUL tarafından hazırlanan bu çalışma, 07/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Kimya Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (5./5.)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı / Danışman:	Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Ebru METE <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Harun BUDAK <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Bünyamin ÖZGERİŞ <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Aslı Islak İmzalıdır

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma; Tübitak 1002 Projesi, BİDEB 2211-C Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı ve YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 121Z116

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak *Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU* danışmanlığında sunulan “TAMOKSİFENİN MODİFİKASYONU: TASARIM, SENTEZ ve BİYOLOJİK DEĞERLENDİRME ” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	18	30
Kuramsal Temeller	2	30
Materyal ve Metot	9	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	18	20
Sonuçlar ve Öneriler	2	20
Tezin Geneli	23	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Berrak Ertuğrul	Prof. Dr. Nurullah Saraçoğlu
23.5.2023	23.5.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

Not: Bu form, Tezin son şekline uygun olarak bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tezin sonuna eklenmelidir.

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma, TÜBİTAK (Proje No: 121Z116) tarafından desteklenmiş olup Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde Sayın Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU yöneticiliğinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım, danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU'na en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışma esnasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ'a ve Arş. Gör. Abdulmelik AYTATLI'ya teşekkür ederim.

Kendileriyle birlikte aynı ortamda çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Spektroskopik ölçümlerin yapılmasında ve spektrumların alınmasındaki çalışmalarından dolayı, Prof. Dr. Cavit KAZAZ, Prof. Dr. Zühal GÜVENALP, Dr. Öğr. Üyesi Hafize YUCA, Öğr. Gör. Barış ANIL ve Öğr. Gör. Osman Nuri ASLAN'a teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Harun BUDAK ve Prof. Dr. Ebru METE ile, tez savunma sınavı jürisinde yer alan Doç. Dr. Bünyamin ÖZGERİŞ'e değerlendirme ve önerileri için teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve katkısı olan herkese sonsuz teşekkür ederim.

BİDEB 2211-C Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı ve YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı ile sağladıkları maddi desteklerden dolayı BİDEB'e ve YÖK'e teşekkür ederim.

Berrak ERTUĞRUL

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TAMOKSİFENİN MODİFİKASYONU: TASARIM, SENTEZ VE BİYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Berrak ERTUĞRUL

Danışman: Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU

Amaç: Bu tez çalışmasında, yeni tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevlerinin, tamoksifen-bis(indolil)metan (TMX-BİM) türevlerinin, dimerik tamoksifenlerin sentezlenmesi, elde edilen yeni moleküllerin sitotoksik ve antikanser aktivitelerinin meme kanser (MCF-7 ve MDA-MB-231) hücre hatları ve normal meme epitel hücreleri (MCF10A) üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Yöntem: Tamoksifen (TMX) iskeletinin sentezi McMurry kenetlenme reaksiyonu, brominasyon ve ardından demetilasyon ile gerçekleştirildi. Elde edilen tamoksifen iskeletinin ilgili indol ve oksindol boronik ester türevleri ile Suzuki kenetlenme reaksiyonları sonucu yeni tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevleri elde edildi. Tamoksifen-temelli indol türevlerinin HFIP içerisinde benzaldehit türevleri ile reaksiyonu sonucu TMX-BİM türevleri sentezlendi. Bunun yanında çeşitli tamoksifen homo-dimerlerinin sentezi etkili bir yöntemle Suzuki kenetlenmesi yoluyla geliştirildi. Elde edilen yeni bileşiklerin östrojen pozitif meme kanseri hücresi (MCF-7), üçlü negatif meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231) ve normal meme epitel hücresi (MCF10A) üzerindeki sitotoksik etkisi, doz ve zaman bağımlı olarak CVDK-8 kitiyle üreticinin talimatları izlenerek yapıldı. Sentezlenen bileşiklerden kanser hücrelerinin canlılığına özgül olarak aktivite gösteren bileşikler belirlendi ve bunların apoptotik etkisi, Kaspaz Assay kolorimetrik test ile 405 nm’de absorbans ölçümlerine dayalı olarak analiz edildi. Tamoksifen türevi bileşiklerin tamoksifene benzer şekilde östrojen reseptörü üzerinden etki ettiklerini doğrulamak için, östrojen reseptör alfa’nın hedef genlerinden olan GREB1 ve PS2 genlerinin ifadeleri Real Time PCR (qPCR) yapılarak belirlendi.

Bulgular: Tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevleri, TMX-bis(indolil)metanlar ve homo-dimer tamoksifenler saf izomerler halinde elde edildi. TMX-bis(indolil)metanların üç farklı türevinin MCF-7 hücreleri üzerinde doz ve zaman bağımlı sitotoksik aktivite gösterdiği gözlemlendi. Kanser hücrelerinin canlılığına spesifik olarak etki ettiği belirlenen bileşiklerden **E-114**, **Z,Z-132b**, **Z,Z-132f** önemli ölçüde MCF-7 hücrelerine özgü olarak kaspaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Bu bileşiklerden spesifik olarak **Z,Z-132b**’nin östrojen reseptör hedef genlerinden GREB1 ve PS2’nin ifadelerini MCF-7 hücrelerinde anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir.

Sonuç: Tamoksifen yerine kullanılabilir antikanser potansiyele sahip yeni indol-modifiye tamoksifen türevleri elde edildi. Sentezlerde Suzuki kenetlenme reaksiyonunun dimerik tamoksifenlerin elde edilmesinde kullanılabilirliği araştırıldı. Bu tez çalışması kapsamında yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar; organik sentez ve biyoaktivite ile ilgili yapılacak olan yeni çalışma ve projelerin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Tamoksifen, İndol, Dimer, Sentez, Suzuki Kenetlenmesi, Biyoaktivite, Antikanser.

Haziran 2023, 146 sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

MODIFICATION OF TAMOXIFEN: DESIGN, SYNTHESIS, AND BIOLOGICAL ASSESSMENT

Berrak ERTUĞRUL

Supervisor: Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU

Purpose: In this thesis, it was aimed to synthesize new tamoxifen-based indole and oxindole derivatives, tamoxifen-BIM derivatives, dimeric tamoxifen and to examine the anticancer properties of the new molecules obtained.

Method: The synthesis of the tamoxifen skeleton was carried out by McMurry coupling reaction, bromination followed by demethylation. New tamoxifen-based indole and oxindole derivatives were obtained as a result of Suzuki coupling reactions with the corresponding indole and oxindole boronic ester derivatives of the obtained tamoxifen skeleton. TMX-bis(indolyl)methane molecules were synthesized by reaction of tamoxifen-based indole derivatives with HFIP. Besides, an efficient method for obtaining various tamoxifen homo-dimers has been developed via Suzuki coupling. Using the CVDK-8 kit, dose and time were adjusted to determine the novel compounds cytotoxic effects on the estrogen positive breast cancer cell line (MCF-7), the triple negative breast cancer cell line (MDA-MB-231), and the normal breast epithelial cell (MCF10A). Among the synthesized compounds, compounds showing specific activity on the viability of cancer cells were determined and their apoptotic effect was analyzed based on absorbance measurements at 405 nm by Caspase Assay colorimetric test. The expression of GREB1 and PS2, target genes of estrogen receptor alpha, was assessed using Real Time PCR (qPCR), in order to confirm that tamoxifen-derived drugs act on the estrogen receptor similarly to tamoxifen.

Findings: Tamoxifen-based indole and oxindole derivatives, TMX-bis(indolyl)methanes and homo-dimer tamoxifens were obtained as pure isomers. It was observed that three different derivatives of TMX-bis(indolyl)methanes showed dose and time dependent cytotoxic activity on MCF-7 cells. It was discovered that the cancer cell viability inhibitors *E-114*, *Z,Z-132b*, and *Z,Z-132f* dramatically increased caspase activity in MCF-7 cells. Specifically, *Z,Z-132b*, one of these compounds, has been shown to significantly reduce the expression of estrogen receptor target genes GREB1 and PS2 in MCF-7 cells.

Results: New indole-modified tamoxifen derivatives with anticancer potential that can be used instead of tamoxifen were obtained. The usability of the Suzuki coupling reaction in the synthesis to obtain dimeric tamoxifens was investigated. The studies carried out within the scope of this thesis and the results obtained; It will contribute to the creation of new studies and projects related to organic synthesis and bioactivity.

Keywords: Tamoxifen, Indole, Dimer, Synthesis, Suzuki Coupling, Bioactivity, Anticancer.

June 2023, 146 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xii
GİRİŞ.....	1
Dimerik Antikanser Terapötikler	6
KURAMSAL TEMELLER.....	7
Tamoksifenin Önemi ve Sentez Yöntemleri	7
Dimerik Doğal Ürünler	13
Dimerik Antikanser Terapötikler	16
Dimerik Steroitler.....	19
Tez Çalışmasının Amacı	22
MATERYAL VE METOT	25
Tamoksifen Temelli İndol ve Oksindol Türevlerinin Sentezi.....	25
İndol Üzerinden Dimerik Tamoksifenlerin Hazırlanması.....	30
Dimerik Tamoksifenlerin Hazırlanmasında Suzuki Reaksiyonunun Kullanılabilirliğinin Araştırılması.....	33
Antikanser aktivite çalışmaları.....	35
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	39
Genel Deneysel Yöntemler	39
Pinakol Esterlerinin Sentezi	40
Genel Prosedür A: Suzuki–Miyaura kenetlenme reaksiyonları	43
Genel Prosedür B: Bis(indolil)metanlar Z,Z-132a-g'nin hazırlanması	46
Genel Prosedür C: Bis(indolil)metanlar E,E-133a-g'nin hazırlanması.....	49
Dimerik tamoksifenlerin hazırlanması.....	53
Antikanser aktivite çalışmaları.....	57
SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	72

Öneriler	75
KAYNAKLAR.....	76
EKLER	81
EK-1. ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR Spektrumları.....	81
EK-2. HPLC Spektrumları	120
ÖZGEÇMİŞ.....	131



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kanserin Evreleri.....	2
Tablo 2. Reaksiyon Şartlarının Optimizasyonu.....	31
Tablo 3. Reaksiyon Şartlarının Optimizasyonu .	32
Tablo 4. Primer Listesi ve Dizileri.....	37
Tablo 5. qRT-PCR Reaksiyon Koşulları Tablosu	38
Tablo 6. Tamoksifen Türevi Bileşiklerin Belirlenen IC ₅₀ Dozları	59



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Metastaz	1
Şekil 2. İndol alkaloitleri ve paklitaksel	3
Şekil 3. Nükleik asit reseptörlerine etki eden bazı kanser ilaçları.....	3
Şekil 4. Bazı antikanserojen antimetabolitler.....	3
Şekil 5. Sitostatik etki gösteren bazı antibiyotikler	4
Şekil 6. Bazı östrojen agonist ve antagonistleri.	5
Şekil 7. Enzim inhibitörleri	5
Şekil 8. Replikasyonla geliştirilmiş bazı ilaçlar	6
Şekil 9. Moleküler hibridizasyonla geliştirilmiş ilaçlar	6
Şekil 10. Tamoksifen, türevleri ve benzer etki gösteren bazı bileşikler	7
Şekil 11. Tamoksifenin geometrik izomerleri.....	10
Şekil 12. Naftilizokinolin türevi dionkofilin A ve onun sentetik dimeri jozimin A	14
Şekil 13. Monomerik ve dimerik 1,2-Dihidro-3 <i>H</i> -pirolo[3,2- <i>e</i>]indol (PDE) doğal ürünleri	14
Şekil 14. PDE metil esteri (CDPI) dimer, trimer ve tetramer yapıları	15
Şekil 15. Naftalimit türevi bazı dimerik antikanser terapötikler	17
Şekil 16. Bis-naftalimid türevi antikanser terapötikler	17
Şekil 17. Antrasiklin grubu antibiyotikler ve bis-antrasiklin yapısı.....	18
Şekil 18. Tamoksifen ve non-steroidal homo ve hetero bifonksiyonel dimerleri	21
Şekil 19. Tamoksifen konjugatları	21
Şekil 20. Sentez planı	22
Şekil 21. Tamoksifenin B halkasının modifikasyonu	23
Şekil 22. Tamoksifenin fenil halkası üzerinden tasarlanan dimerleri	23
Şekil 23. Tamoksifenin B halkasının indol ve oksindol ile modifikasyonu.....	25
Şekil 24. <i>Z</i> -Tamoksifen ve <i>Z</i> -113 bileşiklerin ¹ H NMR spektrumlarının k arşılaştırılması.....	28
Şekil 25. <i>E</i> -113 bileşiğinin ¹ H NMR ve ¹ H NOE NMR spektrumları	28
Şekil 26. <i>Z</i> -113 bileşiğinin ¹ H NMR ve ¹ H NOE NMR spektrumları	29
Şekil 27. <i>Z</i> -113 ve <i>E</i> -113 bileşiklerinin ¹ H NMR ve ¹ H NOE NMR spektrumları	29
Şekil 28. Bileşik <i>E</i> -113'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri.....	60

Şekil 29. Bileşik Z-113 'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	60
Şekil 30. Bileşik E-114 'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücreleri üzerindeki canlılığa olan etkileri	61
Şekil 31. Bileşik Z-114 'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri	61
Şekil 32. Bileşik Z,Z-132g 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri	62
Şekil 33. Bileşik E,E-133g 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri	62
Şekil 34. Bileşik Z,Z-132b 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri	62
Şekil 35. Bileşik E,E-133b 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	63
Şekil 36. Bileşik Z,Z-132a 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	63
Şekil 37. Bileşik E,E-133a 'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	64
Şekil 38. Bileşik Z,Z-132d 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	64
Şekil 39. Bileşik E,E-133d 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	64
Şekil 40. Bileşik Z,Z-132c 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	65
Şekil 41. Bileşik Z,Z-132e 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	65
Şekil 42. Bileşik E,E-133e 'nin MCF-7, MDA-MB231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	66
Şekil 43. Bileşik E,E-133c 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	66
Şekil 44. Bileşik Z,Z-132f 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	67
Şekil 45. Tamoksifenin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri.....	67

Şekil 46. Bileşik <i>E,E-133f</i> 'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	67
Şekil 47. Bileşik <i>E,E-139</i> 'un MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	68
Şekil 48. Bileşik <i>Z,Z-139</i> 'un MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	68
Şekil 49. Bileşik <i>E,E-146</i> 'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	69
Şekil 50. Bileşik <i>Z,Z-146</i> 'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	69
Şekil 51. MCF-7 ve MCF10A hücrelerinde bileşikler <i>Z,Z-132b</i> ; <i>E,E-133b</i> ; <i>E,E-133d</i> ve <i>Z,Z-132f</i> ve <i>E-114</i> bileşiklerinin kaspaz aktiviteleri	70
Şekil 52. <i>E-114</i> , <i>Z,Z-132b</i> ve <i>Z,Z-132f</i> bileşiklerinin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri	71
Şekil 53. <i>E-114</i> , <i>Z,Z-132b</i> ve <i>Z,Z-132f</i> bileşiklerinin gen ekspresyon deneyleri	71
Şekil 54. Öncü bileşikler ve tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevlerinin yapıları	72
Şekil 55. Tamoksifen-temelli bis(indolil)metan türevlerinin yapıları	73
Şekil 56. Tamoksifen-temelli bis(indolil)metan türevlerinin oluşumu için önerilen mekanizma	73
Şekil 57. Homo-dimer tamoksifenlerin yapıları	74
Şekil 58. Çalışmada elde edilen yeni antikanser ajanları	74

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

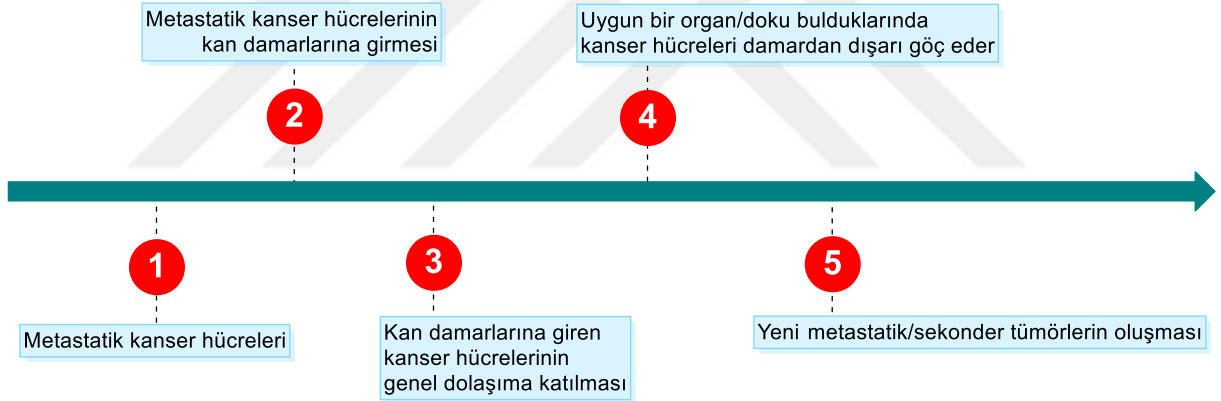
ATP	: Adenozin Trifosfat
BBr ₃	: Bor Tribromür
bd	: Geniş dublet
BİM	: Bis(indolil)metan
bs	: Geniş singlet
d	: Dublet
dd	: Dubletin dubleti
ddd	: Dubletin dubletinin dubleti
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMF	: <i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
dt	: Dubletin tripleti
eter	: Dietyl eter
FDA	: Food and Drug Administration
HFIP	: Hekzafloro izopropanol
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
Hz	: Hertz (s ⁻¹)
IC ₅₀	: Yarı-Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu
m	: Multiplet
MCF10A	: Sağlıklı Meme Epitel Hücre Hattı
MCF-7	: Michigan Cancer Foundation
MDA-MB-231	: Üçlü Negatif Meme Kanseri Hücre Hattı
MHz	: Megahertz (10 ⁶ s ⁻¹)
ppm	: Milyonda bir kısım (Part Per Million)
RNA	: Ribonükleik asit
s	: Singlet
t	: Triplet
td	: Tripletin dubleti
THF	: Tetrahidrofuran
TiCl ₄	: Titanyum tetraklorür

TLC : İnce tabaka kromatografisi (Thin-layer chromatography)
TMX : Tamoksifen



GİRİŞ

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalması şeklinde devam eden patolojik bir durumdur. Normal hücre büyümesinde hücrenin diferansiyasyonu (farklılaşma) ve proliferasyonu (çoğalma) iyi ayarlanmış ve sıkı kontrol altındadır. Bu iki olaydan herhangi birisi ya da ikisi kontrol dışına çıkarsa normal hücrelerin malign (kötü huylu) hücrelere dönüşme riski artar. Maligniteye uğramış hücreler bir araya gelerek tümörleri oluşturur. Oluşan tümörler canlılığını devam ettirebilmek için replikatif yaşlanmanın üstesinden gelmek ve yüksek proliferasyon oranını korumak amacıyla kan dolaşımına tutunarak yeterli miktarda besin ve oksijen sağlamak zorundadır. Tümörün bu amaçla kan dolaşımına girmesi ile lokal dokulara invazyon (yerleşme) ve metastaz (yayılma) gerçekleşir (Welch ve Rinker-Schaeffer 1999; Marrinucci vd., 2012; Donato vd., 2020) (Şekil 1).



Şekil 1. Metastaz

Kanserin ciddi bir hastalık haline gelmesinin asıl sebebi olan metastaz, ölümlerinin yaklaşık %90'ından sorumludur. Metastaz, tümörün olduğu bölgeden, başka yeni doku ve organlara yayılım şeklinde gelişir. Kanser erken teşhis edildiğinde, cerrahi müdahale ya da kemoterapi ile başarıyla tedavi edilebilir, ancak kanserin metastaza uğradıktan sonraki teşhisinde tedavi genellikle başarısız olur. Genel olarak kanserin bir kişide neden geliştiği tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, araştırmalar, bazı risk faktörlerinin kişide kanser geliştirme olasılığını artırdığını göstermiştir. Bu faktörler çeşitli şekillerde vücuda kimyasal karsinojenlerin girmesi, düşük sebze meyve tüketimiyle sağlıksız diyetler, obezite, iyonize edici ve iyonize olmayan radyasyonlar, alkol ve sigara kullanımı ve fiziksel aktivite eksikliği gibi etkenler olarak belirlenmiştir (Nguyen ve Massagué 2007).

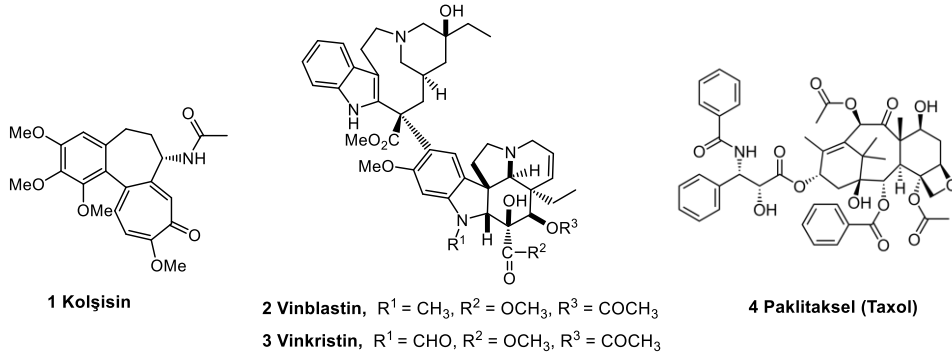
Araştırmacıların kanserli bir hücreye tedavi önerilebilmesi için ilk olarak kanserin evresinin belirlenmesi gerekir. Kanserın evreleri, tümörün büyüklüğü ve ne ölçüde yayılmış olduğu gibi bilgiler verir. Bunun için TNM (Tumor Node Metastasis) sistemi kullanılır (American Joint Committee on Cancer). T tümörün büyüklüğünü, N yakınındaki kanserli lenf nodlarının sayısını ve M tümörün kanser metastazı olup olmadığını gösterir. TNM, Tablo 1'deki gibi gruplanmıştır.

Tablo 1. Kanserın Evreleri (American Joint Committee on Cancer).

Evre 0	Normal olmayan hücreler vardır, ancak yakın dokulara yayılım yoktur. (Carcinoma in situ (CIS)) CIS kanser değildir, fakat kansere dönüşebilme ihtimali vardır.
Evre I, Evre II ve Evre III	Kanser vardır. Sayı, tümör büyüklüğünü ve yayılım miktarını verir.
Evre IV	Kanser metastaza uğramıştır.

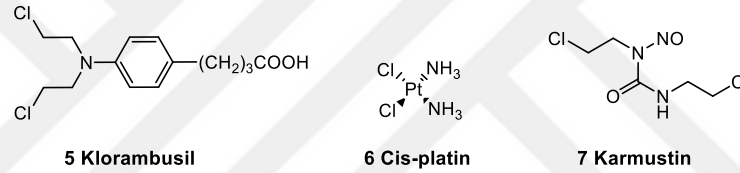
Kanser kemoterapisi, klinik uygulamalara göre hastalığı iyileştirmek üzere yapılan *küratif tedavi* ve yalnızca hastalığın ilerleyişini durdurmayı hedefleyen *palyatif tedavi* olmak üzere iki şekilde yapılır. Günümüzde kanser tedavisinde şuan kullanımda olan ve ilaçlar etki ettikleri yere göre; mitoz ve enzim inhibitörleri, alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, sitotostik antibiyotikler, hormon antagonistleri, interferonlar ve monoklonal antikorlar olarak gruplandırılır (Nguyen ve Massagué 2007).

Mitoz inhibitörleri arasında doğal kaynaklı alkaloitler yer alır. *Colchicum autumnale*'den ekstraksiyonla elde edilen Kolşisin (1) ve *Vinka rosea* bitkisinden elde edilen Vinblastin (2) ve Vinkristin (3) (Vinka alkaloitleri veya indol alkaloitleri) kanser hücrelerinin metafaz evresinde hücre çekirdeğinin mitoz bölünmesinin engellenmesine ve buna bağılı olarak DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etki gösterirler (Şekil 2) (Bérubé 2006). Paklitaksel (Taksol) (4), *Taxus brevifolio*'nın kabuklarından izole edilen, taksan iskeleti taşıyan bileşikler de, mitoz inhibitörü olarak kullanılır (Şekil 2). Tedavide direnç gelişimini önlemesi sebebiyle birçok kanser ilacı ile kombine halde ve ayrıca meme karsinomlarında metastaz olmuş hastalarda kullanılmaktadır (Bérubé 2006).



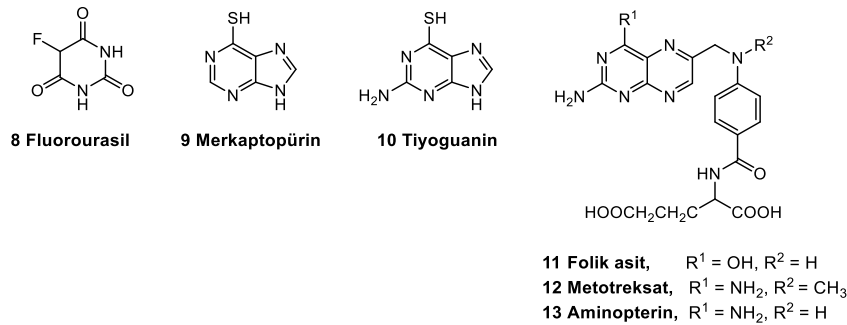
Şekil 2. İndol alkaloitleri ve paklitaksel

Birçok kemoterapötik ilacın reseptörleri nükleik asitlerdir (DNA ve RNA). Kanser tedavisinde kullanılan alkilleyici bileşiklerin etki mekanizmaları, reseptör proteinlerinin serbest amino gruplarının veya nükleik asitlerin adenil veya fosfat gruplarının alkilasyonu ile kovalent bağ oluşturmaları esasına dayanır. Nükleik asit veya proteinlerin alkilasyonu ile kanserli hücrenin bölünmesi, dolayısıyla çoğalmasındaki fonksiyonlar engellenmekte ve sitotoksik etki ortaya çıkmaktadır. Bu sınıfa ait ilaçlar Şekil 3’ de verilmiştir (Dalkara ve Saraç 2016).



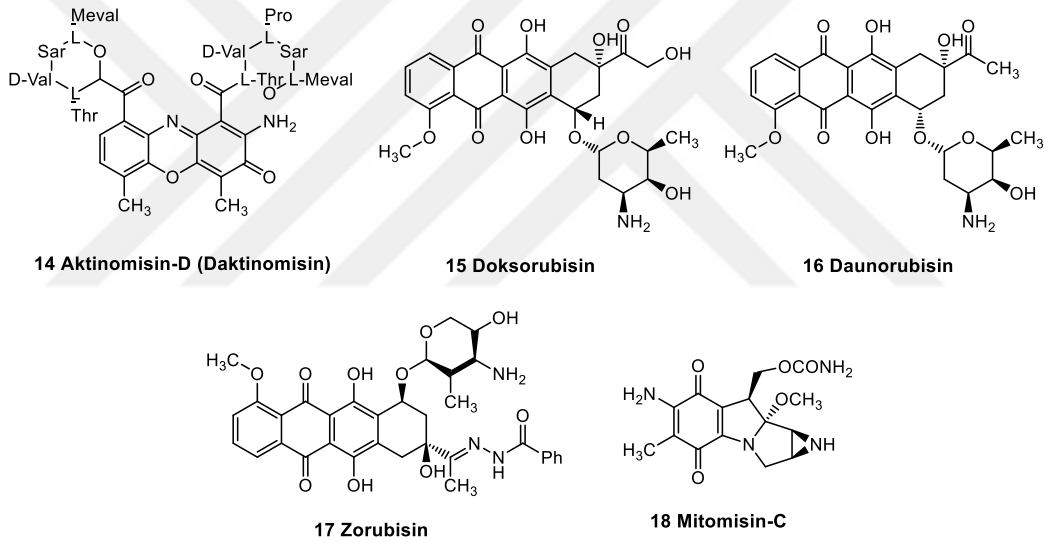
Şekil 3. Nükleik asit reseptörlerine etki eden bazı kanser ilaçları

Antikanser antimetabolitler, genel olarak antiviraller gibi, nükleik asitlere ve bunların temel yapılarına katılan koenzimlerle yapısal olarak benzer bileşiklerdir (Şekil 4). Bu bileşikler polimeraz enziminin işlevini durdurarak tümörün inhibisyonunu sağlarlar. Bununla birlikte, bu gruptaki ilaçlar organizmaya uygulandığında, normal bir hücrenin DNA yapısı ile kanser hücresinin DNA yapısını birbirinden ayıramamaktadır. Bundan dolayı moleküllerin sitostatik etkileri seçimli değildir ve klinik kullanımları sınırlıdır (Tuncbilek vd., 2012; Kucukdumlu vd., 2017).



Şekil 4. Bazı antikanserojen antimetabolitler

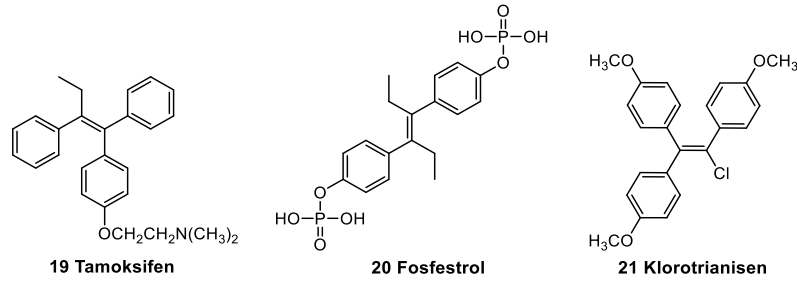
Sitostatik etki gösteren bazı antibiyotikler, toksik özellikleri nedeniyle bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmamaktadırlar. Sitostatik özelliklerinin saptanmasından sonra bu bileşiklerin antikanser olarak kullanılabilecekleri düşünülmüş ve tedaviye sunulmuştur. Bu antibiyotiklerden polipeptit yapıda olan tedaviye sokulmuş aktinomisin (**14**) genel olarak RNA'nın sentezini inhibe ederler (Şekil 5). Tümör gelişim döngüsünün S ve G2 fazlarına etki ederler. *Streptomyces* türlerinden elde edilen antrasiklin grubu antibiyotiklerden doksوروبisin (**15**), daunorubisin (**16**), zorubisin (**17**), daha çok tümör gelişiminin S fazına etki ederler (Şekil 5). DNA'nın nükleik asit sentezini ve topoisomerez enziminin etkisini inhibe ederler. *Streptomyces caespitosus* kültüründen sekonder metabolit olarak elde edilen diğer bir antibiyotik mitomisin-C (**18**)'dir. Mitomisin-C, *in vitro* denemelerde aktif özellik göstermeyen bir antibiyotiktir. Bir taraftan alkilleyici olarak etki gösterirken, diğer taraftan serbest radikal meydana getirir. Bu nedenle pankreas karsinomlarında sitotoksik olarak kullanılır (Bérubé 2006) (Şekil 5).



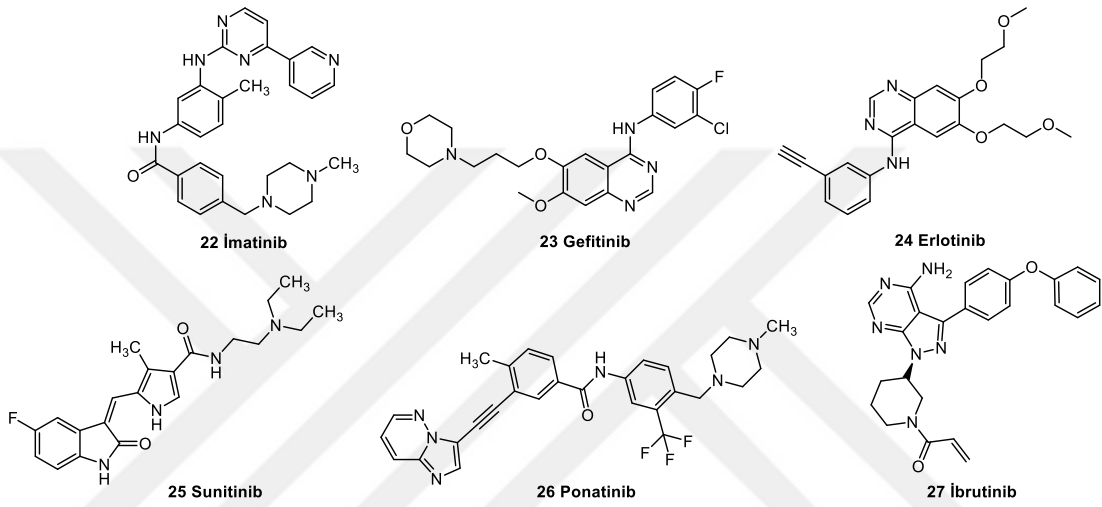
Şekil 5. Sitostatik etki gösteren bazı antibiyotikler

Hormonlara bağlı olarak gelişen bazı tümörlerin tedavisinde de hormon ve hormon antagonistleri kullanılır. Bazı kötü huylu tümörler, hücrelerinin canlılığı bir hormon tarafından baskı altında tutulan dokulardan dolayı oluşurlar. Bu tümörleri etkisiz hale getirebilmek için antineoplastik ilaç olarak inhibe edici hormon veya benzeri kullanılır. Meme ve prostat kanseri gibi bazı kanserler vücutta hormon olarak adlandırılan bazı maddelerin varlığında büyüyüp gelişirler. Hormonal tedavi vücuttaki hormon miktarını değiştirerek meme, prostat, serviks, over, endometrium, tiroit, böbrek hücre kanserleri, lenfomi ve lösemi, üreme sistemi kanserlerinin tedavisinde kullanılır. Örneğin tamoksifen (**19**) vücuttaki östrojen miktarını azaltır ve hormona duyarlı meme kanserinin tedavisinde kullanılır (Şekil 6). Buna karşılık östrojen hormonu özelliği gösteren nonsteroidal östrojen agonisti fosfoestrol (**20**) ve

klorotrianisen (**21**) prostat kanseri tedavisinde kullanıldığında, kanser gelişimi ve metastazın oldukça yavaşladığı görülmüştür (Bérubé 2006) (Şekil 6).



Şekil 6. Bazı östrojen agonist ve antagonistleri.



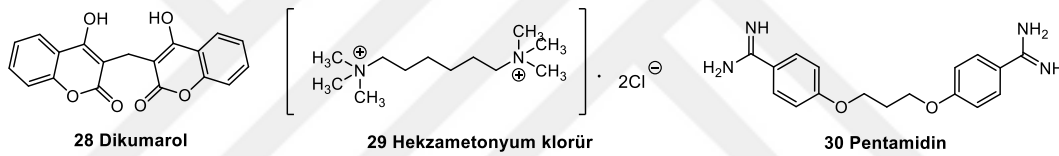
Şekil 7. Enzim inhibitörleri

Enzim inhibitörleri enzimlerin katalitik aktivitesini azaltan ya da bu etkiyi tamamen ortadan kaldıran moleküllerdir. Enzimatik aktivitenin azalması ve enzimin tamamen bloke olması hem hücre ölümüne hem de hücre döngüsündeki yolların inhibisyonuna sebep olabilir. Tirozin kinaz, ATP'de bulunan fosforun hedef proteinlere aktarılmasını sağlayan, protein fosforilasyonunu hızlandıran bir enzimdir (Paul ve Mukhopadhyay 2004). Hücre bölünmesi, hücreler arasındaki sinyallerin iletilmesinde, hücrenin canlılığı hareketi gibi önemli işlevler yürütür (Pawson 2002; Zhang 2009). Tirozin kinazların kanser büyümesindeki önemli rolleri anlaşıldıktan sonra, kanser tedavisinde iyi bir hedef olmuşlardır. Tirozin kinazlar, pek çok spesifik substrat proteinlerde ATP'den tirozine fosfat taşıyarak hücre içi sinyallerin iletilmesini başlatırlar. Karsinogenez ile ilişkili büyüme faktörlerinin sinyal yollarının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Tirozin kinazların aktivitesindeki bozulma hematolojik malignitelerde de görülür. Özellikle kronik miyeloid lösemi ve akut lenfoblastik lösemide tirozin kinazların aktivitesi artmıştır (Alacacioğlu ve Özcan 2012). Yapılan çalışmalarla ilk Tirozin Kinaz İnhibitörü (TKI) imatinib (**22**) keşfedilmiş ve 2001'de FDA tarafından onaylanmıştır. Diğer tirozin kinaz inhibitörleri geliştirilirken imatinib prototip olarak alınmış ve yapı-aktivite

ilişkileri incelenmiştir. Genel etki mekanizması tirozin kinazın bağlanma bölgesinde yarışmalı ATP inhibisyonudur; fakat her bileşiğin farmakokinetiği, hedeflediği kinaz spektrumu ve yan etkileri birbirinden farklıdır (Hartmann vd., 2009). TKI Şekil 7'de sınıflandırılmıştır (Das ve Wakelee 2012).

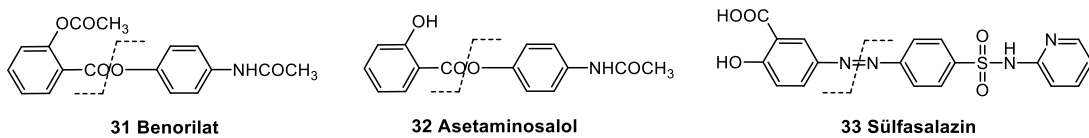
Dimerik Antikanser Terapötikler

Reseptöre karşı daha iyi afinite göstererek sitotoksiteyi daha güçlü hale getirmek ve ilacın aktivitesini daha da artırmak için uygun bağlayıcılarla (linkır) ilaç molekülleri birbirine bağlanır. Dimerik molekül elde etmek, farmokofor grubu birden fazla sayıda içeren yeni moleküller elde etmek açısından araştırmacılar tarafından ilgi çekici olmuştur. Özdeş grupların kovalent bağlarla birleşmesi ile oluşan dimerik yapılar moleküler replikasyon olarak adlandırılır. İki grup birleşirse moleküler duplikasyon, üç grup birleşirse moleküler triplikasyon ve devam edecek şekilde adlandırılır. Örneğin dikumarol (**28**), heksametyonyum klorür (**29**), pentamidin (**30**) benzer şekilde düşünülebilecek simetrik ilaç molekülleridir (Dalkara ve Saraç 2016) (Şekil 8).



Şekil 8. Replikasyonla geliştirilmiş bazı ilaçlar

Moleküler hibridasyon farklı grup ve moleküllerin kovalent bağlarla bağlanması sonucu yeni moleküller elde edilmesidir. Bu yöntem sinerjik etki elde etmek veya bir etkiye yardımcı olmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Aspirin ve asetaminofenin birleştirilmesiyle benorilat (**31**), salisilik asit ve asetaminofenin birleştirilmesiyle asetaminosalol (**32**), sülfapiridin ve aminosalisilik asidin birleştirilmesiyle sülfasalazin (**33**) moleküler hibridizasyonla geliştirilmiş kanser ilaçlarına örnektir (Dalkara ve Saraç 2016) (Şekil 9).

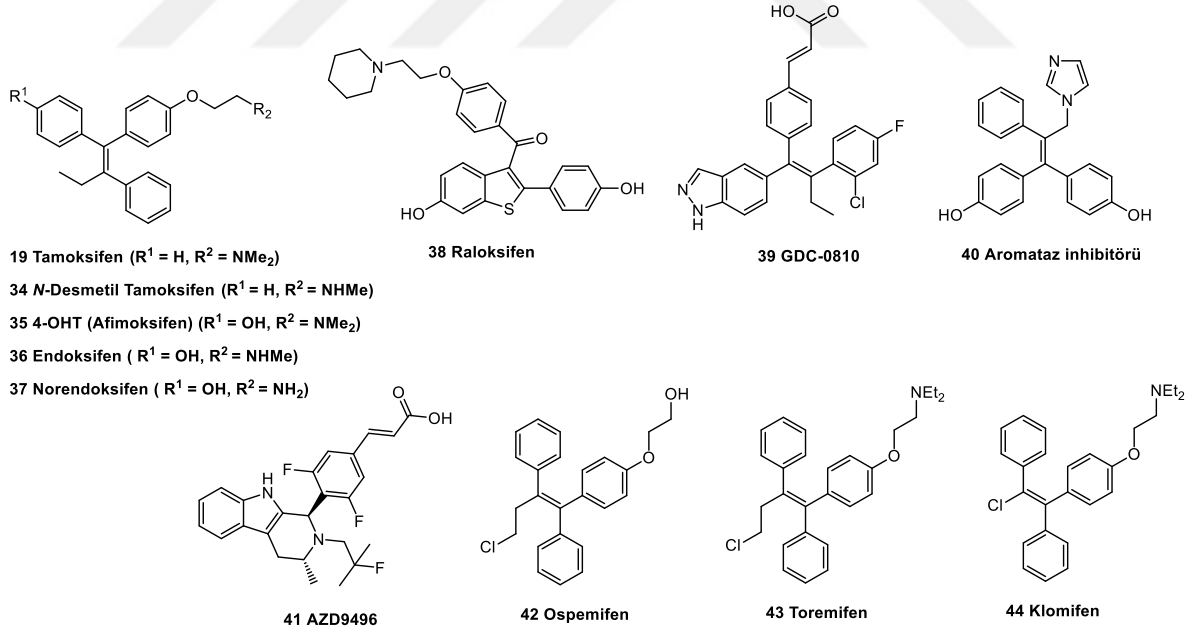


Şekil 9. Moleküler hibridizasyonla geliştirilmiş ilaçlar

KURAMSAL TEMELLER

Tamoksifenin Önemi ve Sentez Yöntemleri

Tamoksifen (**19**) ve türevleri meme kanseri, disparoni ve osteoporoz dâhil çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan, son derece güçlü ve önemli bir ilaç sınıfını oluştururlar. Tamoksifen, 1970'lerden beri, östrojene bağımlı meme kanseri tedavisinde kullanılan seçici östrojen reseptör modülatörüdür. Meme gibi hedef organlarda, östradiolün etkisini reseptör protein sentezini inhibe ederek bloke eder. Tamoksifen meme hücresinde antagonist etkiler gösterirken, endometriyum üzerinde agonist etki göstermektedir. Bu yüzden tedavide birincil ilaç olarak kullanılmasına rağmen endometriyal tümörlerin oluşumunu artırması ile dezavantaj sağlamaktadır. Tamoksifen nonsteroidal trifeniletilen türevi bir antiöstrojendir. En önemli metaboliti olan *N*-desmetiltamoksifen (**34**), tamoksifen gibi antiöstrojenik etki göstermektedir. Tamoksifenin hidroksi türevlerinden biri olan endoksifen (**36**) önce meme kanseri ajanı olarak geliştirilmiştir, fakat daha sonra postmenopozal ve yaşlılık osteoporozu için de terapötik bir ilaç adayı olduğu gözlemlenmiştir (Shiina vd., 2007) (Şekil 10).

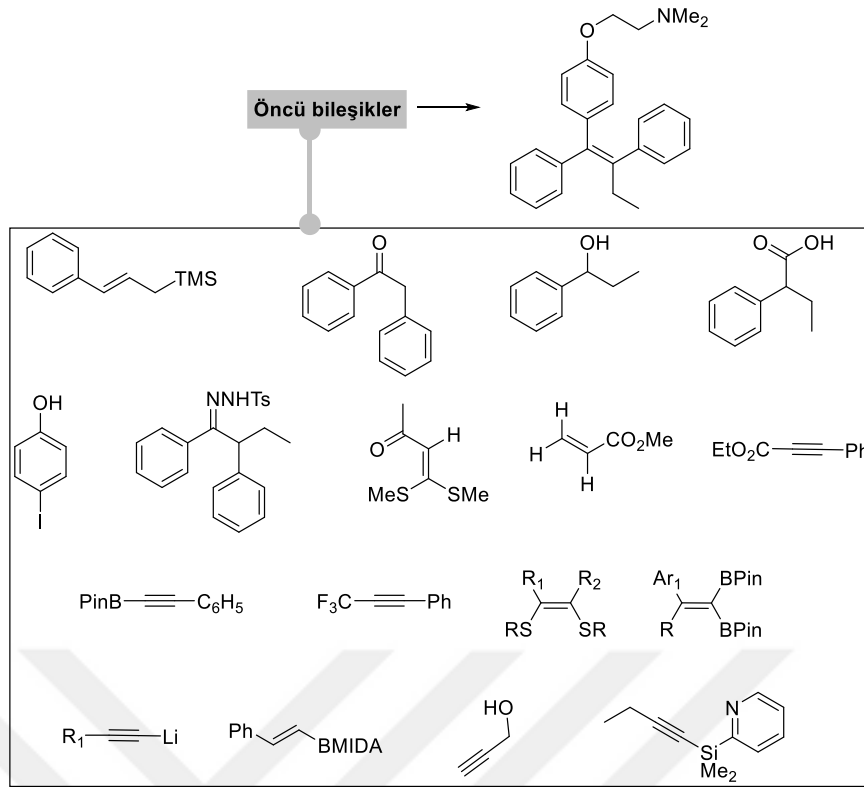


Şekil 10. Tamoksifen, türevleri ve benzer etki gösteren bazı bileşikler

Bu çekirdek yapısına sahip moleküllerin farklı yan zincirlerle sentezi veya fenil gruplarının farklı aromatik halkalarla yer değiştirmesi ile tamoksifene benzeyen yeni bileşiklerin (**34-44**) sentezi gerçekleştirilmiştir (Lim vd., 2017) (Şekil 10). Tamoksifenin, metabolizma enzimleri tarafından, kendisinden 100 kat daha fazla afiniteye sahip olan 4-

hidroksitamoksifen (**35**), endoksifen (**36**) ve norendoksifen (**37**)'e metabolize olduğu rapor edilmiştir (Lim vd., 2017) (Şekil 10).

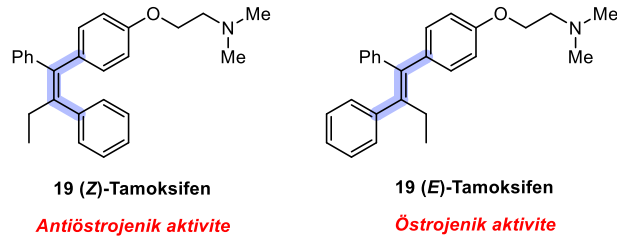
Tamoksifen ve türevlerinin özellikleri, bu tip olefinlerin sentezi için araştırmacılara ilgi odağı olsa da reaksiyonlarda karşılaşılan yetersiz stereoseçicilik halen daha sorun teşkil etmektedir. Tamoksifende alken parçasını oluşturabilmek için sıklıkla kullanılan Mc Murry kenetlenmesi ve dehidrasyon reaksiyonları, tamoksifen sentezinde ilgili alkenin uygun stereoseçicilikle oluşturulması için güçlük yaratmaktadır (Tandon vd., 2020). Bundan dolayı bu metotlara alternatif olarak Armstrong Cummins, Knochel, ve Miller tarafından çeşitli metaller kullanılarak tamoksifen için yeni sentez prosedürleri geliştirilmiştir (Miller ve Al-Hassan 1995; Cummins 1995; Knochel vd., 1998). Tamoksifen ve türevlerinin sentezlenmesinde geçiş metallerinin kullanımı araştırmacılara, daha iyi stereo kontrol, daha ucuz ve yüksek verimli sentetik prosedürlerin tasarlanmasını sağlamıştır. Bu geçiş metalleri tamoksifen yapısının önemli anahtar basamaklarının sentezi için kullanılan Sonogashira (Cu), Suzuki (Pd), Negishi (Zn) ve Stille (Sn) gibi kenetlenme reaksiyonlarını kapsamaktadır. Tamoksifenin farmakolojik özellikleri, antitümör aktivitesi ve terapötik potansiyeline ilişkin birçok çalışma literatürde verilmiştir. Ancak bugüne kadar, yalnızca 2012 yılında tamoksifenin, fenil sübtitüe çift bağı oluşumu, iki aromatik ketonun redüktif kenetlenmesi ve geçiş metal katalizli reaksiyonlar olmak üzere üç ana yolla sentezlenebileceği ortaya konulmuştur (Kasiotis ve Haroutounian 2012). Bundan hareketle tamoksifenle ilgili; Zn, Pd, Li gibi metal bazlı reaktiflerle, karbon-karbon tekli bağı, karbon-karbon çift bağı ve karbon-karbon üçlü bağı oluşturulması gibi sentez stratejileri ve C-H fonksiyonellendirme, alkinlere katılma reaksiyonları, nükleofilik katılma, sübtitüsyon, eliminasyon ve redüktif kenetlenme reaksiyonları literatürde geniş bir şekilde rapor edilmiştir (Şema 2.1).



Şema 2.1. Temel kimyasallardan tamoksifen sentezi

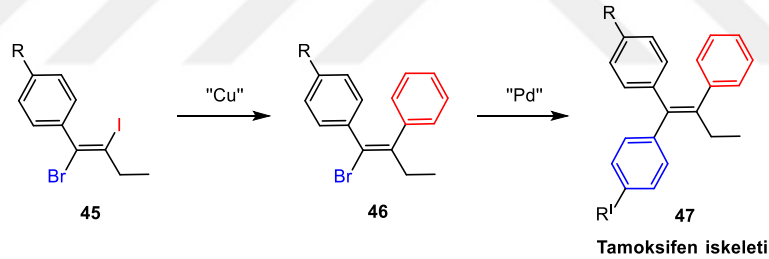
Tamoksifen, hastalarda diğer kanser ilaçlarına oranla daha az yan etki gözlenmesi ve uygun maliyetli olması nedeniyle birkaç yıldır dünya çapında sıklıkla kullanılan östrojen reseptör modülatörüdür. Meme kanseri tedavisi ve meme kanseri riski yüksek olan kadınlarda kimyasal olarak önleyici bir ilaç olarak da kullanılmaktadır (Nayk vd., 2014).

Organik kimyacılar çeşitli substratlar ve reaktifler kullanarak, tamoksifenin *E*- ve *Z*-izomerlerinin stereoselektif sentezi için yeni bir metot geliştirmek amacıyla yoğun bir çaba göstermişlerdir (Tandon vd., 2020). Tamoksifenin farklı konfigürasyona sahip *E/Z* izomerlerinin fizikokimyasal özellikleri ve dolayısıyla farmakolojik özellikleri de farklıdır. Bu izomerlerin fizikokimyasal özelliklerinin farklı olması nedeniyle biyolojik ortamda dağılımları, buna bağlı olarak reseptör yöresine ulaşma durumları da farklılık gösterir. Taşıdığı grupların uzayda farklı konumlanmaları sonucu spesifik reseptöre bağlanmadaki farklılıklardan dolayı da tamoksifenin *E*- ve *Z*- izomerleri birbirinden farklı farmakolojik aktivite gösterirler (Dalkara 2016). Bundan dolayı tamoksifenin *E*- izomeri (***E*-19**) östrojenik aktivite gösterirken, *Z* izomeri (***Z*-19**) antiöstrojenik aktivite göstererek antikanser terapötik olarak kullanılmaktadır (Pilli ve Robello 2004) (Şekil 11).



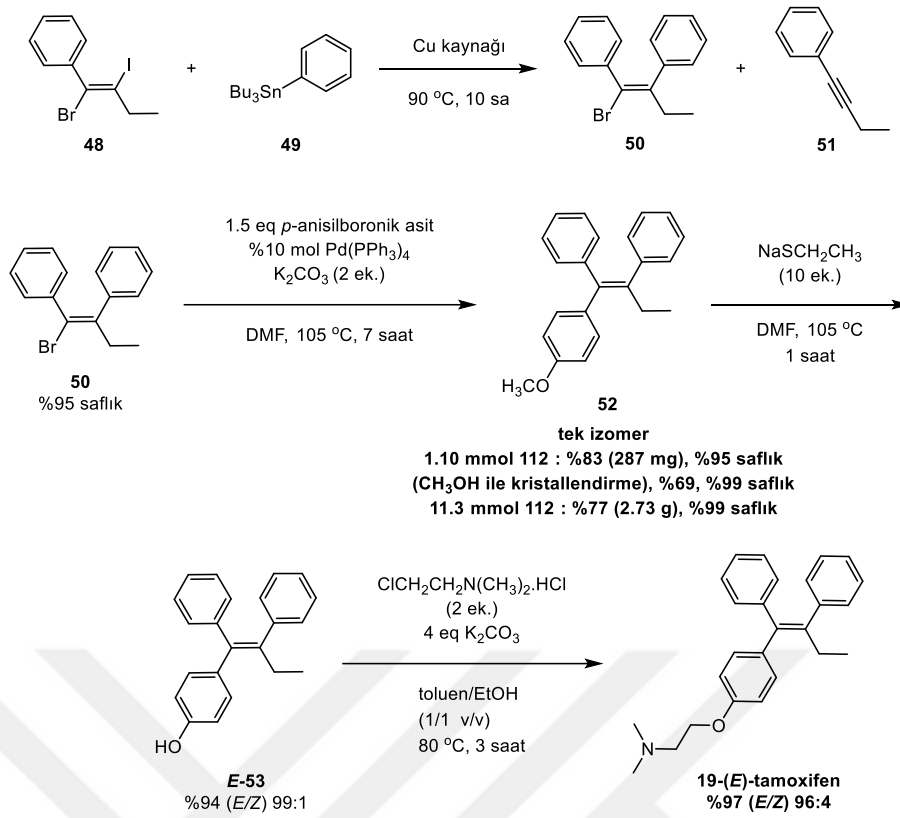
Şekil 11. Tamoksifenin geometrik izomerleri

(*E*)- ve (*Z*)-Tamoksifenler gibi tetrasübstitüe olefinlerin biyolojik önemine rağmen, etkili ve basit stereoselektif sentezin geliştirilmesi hala büyük bir sorun olmaya devam etmektedir. Sentetik kimyacılar, karbonil olefinasyonu, 1,1-disübstitüe olefinlerin yer değiştirmesi, alkinlerin karbometalasyonu gibi karbon-karbon çift bağları oluşturmak için birçok sentez yaklaşımı geliştirmiştir. Fakat bu sentez yaklaşımları bile stereokimyasal kontrollü, özellikle asiklik tetrasübstitüe alkenlerin izomerik karışımlarının oluşmasına çözüm getirememektedir. Bu sınırlamalar, farklı sübstitüe olefinler üzerinde tek izomerlerin sentezlenmesi beklentisini ortaya çıkarmış ve devam eden çabalar sonucunda, tamoksifen yapı iskeletinin çeşitli stratejilerle geliştirilmesi amaçlanmıştır. Buradan hareketle (*E*)- ve (*Z*)-tamoksifenlerin (*E*)-1-bromo-2-iyodoalkenil üzerinden sentezine gidilmiştir (Ashida vd., 2018) (Şema 2.2).



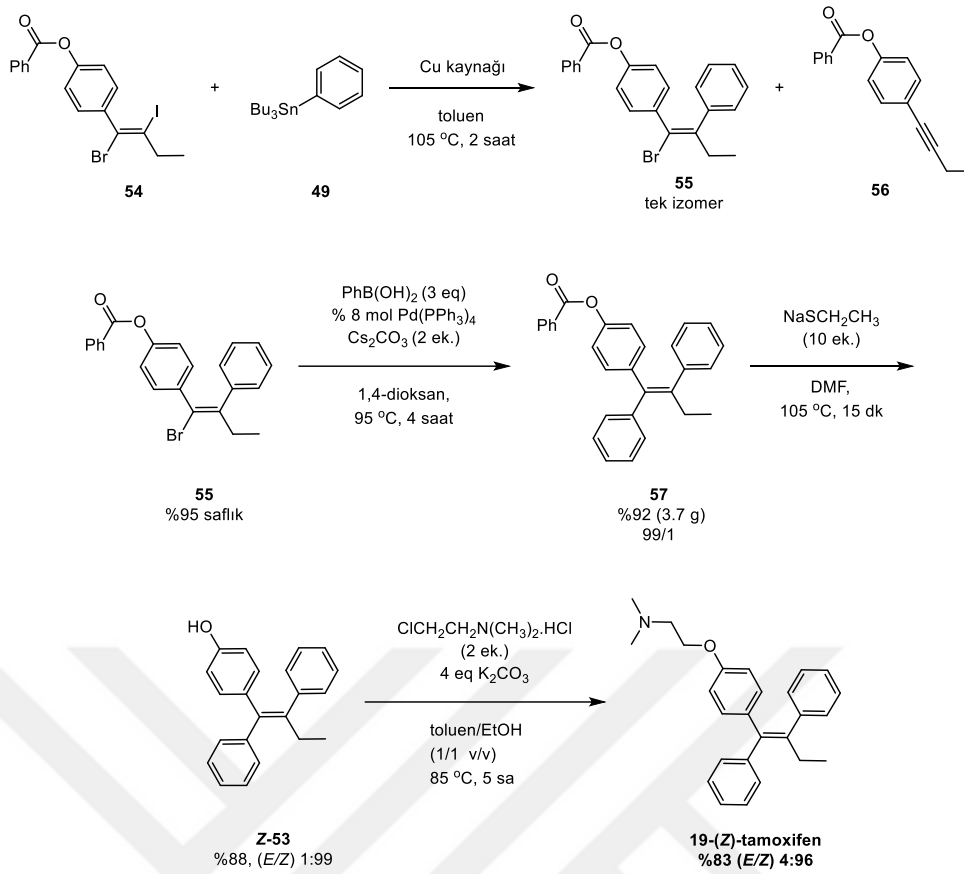
Şema 2.2. Tamoksifenin stereoselektif bir sentezi

(*E*)-Tamoksifen (*E*-19)'nin hazırlanmasında vinil bromür **50**'nin sentezi önemli bir kademedir. Beklendiği gibi, vinil bromür **50**, ilgili boranik asit türevi ile stereokimyayı tam olarak koruyarak Suzuki kenetlenme reaksiyonu sonucu öncü bileşik **52** elde edilmiştir. Sonrasında sodyum etan tiyolat ($\text{NaSCH}_2\text{CH}_3$) reaktifi kullanılarak fenolik trifeniletan *E*-**53** elde edilmiştir (Fujii vd., 2019). Son olarak eterifikasyon basamağı ile %97 verimle, *E/Z* oranı 96/4 olan *trans* oluşumlu (*E*)-tamoksifen (*E*-19) elde edilmiştir (Fujii vd., 2019) (Şema 2.3).



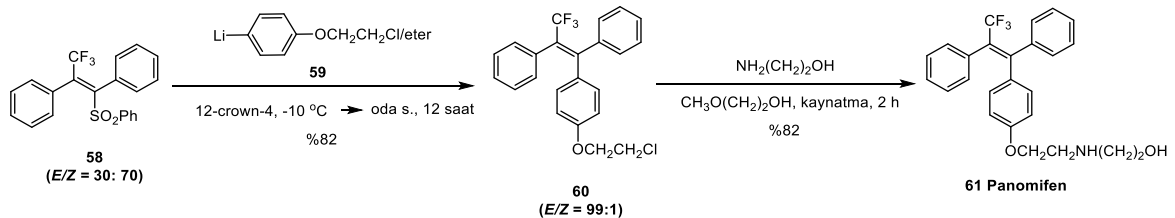
Şema 2.3. Stereoselektif (*E*)-tamoksifen sentezi

Benzer bir şekilde, (*Z*)-tamoksifen (**Z-19**)'in yapısı göz önüne alınarak benzoat ile korunmuş %90 izomerik saflıkta, bir etil grubuna sahip olan diariletlen bileşiği **55**'in sentezi Fujii ve grubu (2019) tarafından rapor edilmiştir. Vinilik brom **55** ile iyi bilinen paladyum katalizli Suzuki kenetlenmesi sonucunda %92 verimle benzoat ile korunmuş trifeniletlen türevi **57**, stereo kontrollü bir şekilde sentezlenmiştir. Bileşik **56**'un yapısı kristalografik analiz ile belirlenmiştir. Daha sonra, **57**'nin benzoat grubunun sodyum etantiyolat (NaSCH₂CH₃) ile uzaklaştırılmasıyla fenolik bileşik **Z-53**, %88 verimle tek izomer halde elde edilmiştir. Son olarak eterifikasyon basamağı ile %83 verimle, *E/Z* oranı 4/96 olan (*Z*)-tamoksifen (**Z-19**) elde edilmiştir (Fujii vd., 2019) (Şema 2.4).



Şema 2.4. Stereoselektif (Z)-tamoksifen sentezi

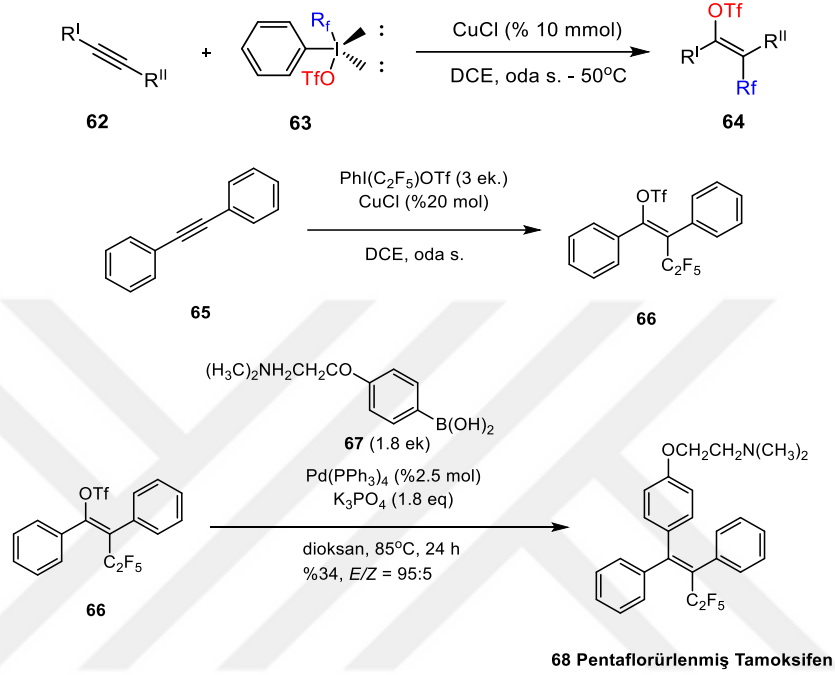
Tamoksifene benzeyen CF_3 -süstitüe bir bileşik olan panomifen (**61**), yalnızca (*E*)-izomerine sahip olması yönüyle tamoksifenden daha üstün antiöstrojen ve tümör inhibitörü özelliklerine sahiptir. Bu nedenle, panomifenin *E*-izomerinin stereo-kontrollü sentezi son yıllarda oldukça önemli hale gelmiştir. Panomifenin hazırlanması için literatüre birçok yöntem kazandırılmıştır. Bunlardan birisi, bir seri reaksiyon dizisi ile molekül **58**'in sentezi ve ardından bu bileşiğin *p*-metoksifenillityum (**59**) ile eter içerisinde oda sıcaklığındaki reaksiyonu sonucu molekül **60**'ın sentezlenmesidir. Elde edilen CF_3 -süstitüe-1-aril-1,2-difeniletan (**60**), %78 verimle *E/Z* oranı 99/1 olarak bulunmuştur. Moleküldeki klor atomunun amin bileşiği ile yer değiştirme tepkimesi sonrası panomifen (**61**) elde edilmiştir (Kim ve Jeong 2005) (Şema 2.5).



Şema 2.5. Panomifen'in stereokontrollü sentezi

Flor-süstitüe gruplar taşıyan moleküller, diğer fonksiyonel gruplara oranla daha fazla lipofilliklik, metabolik kararlılık ve daha iyi biyoyararlanım göstermesi gibi benzersiz özelliklerinden dolayı önemli bileşiklerdir. Bu yüzden perfloroalkil gruplarını (R_f) içeren

organik bileşenlerin keşfi araştırmacılar için ilgi çekici olmuştur. Yöntemin sentetik değerini göstermek için optimize edilmiş koşullar belirlendikten sonra, ilgili iç alkinden yola çıkarak, (PhI(C₃F₇)OTf) katalizli reaksiyon sonucu perfloro alkillenmiş triflat **64**, %49 verimle elde edilmiştir. Triflat grubu üzerinden boranik asit ile Suzuki kenetlenme reaksiyonu ile pentaflorürlenmiş tamoksifen **68** elde edilerek flor-süstitüe tamoksifen türevi literatüre kazandırılmıştır (Wang ve Studer 2017) (Şema 2.6).

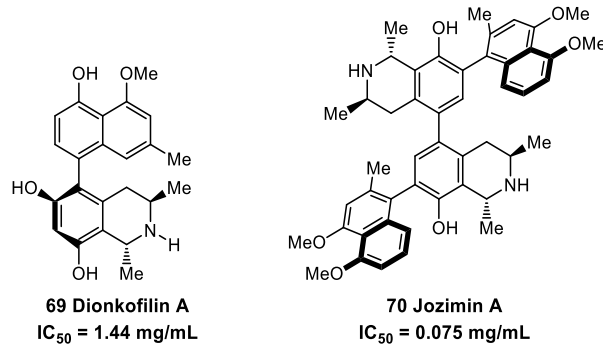


Şema 2.6. Flor-süstitüe tamoksifen türevi sentezi

Dimerik Doğal Ürünler

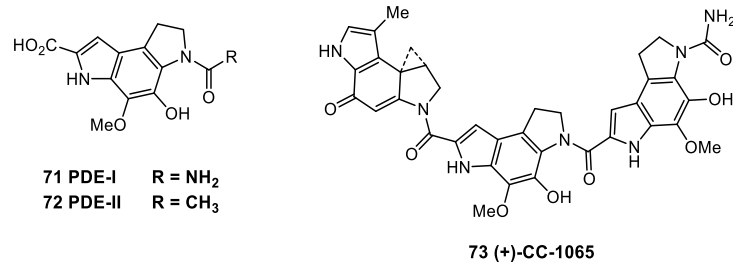
Dimerizasyon, polisiklik iskelete sahip kompleks doğal ürünlerin inşa edilmesi için başlıca yöntemlerden biridir. Proteinlerin ve reseptörlerin dimerizasyonu, hücre çoğalması ve farklılaşması dahil olmak üzere birçok hücresel proseslerde kritik rol oynar. Her zaman olmasa da çoğu zaman bir ilaç molekülünün dimer formu, monomerinden daha yüksek aktivite gösterebilir. Bu sebepten dolayı ilaç kimyasında dimerizasyon önemli bir unsurdur (Li Vd., 2018; Meenakshisundaram vd., 2019).

Naftilizokinolin alkaloidleri yapısal ve farmakolojik olarak ilgi çekici etkilere sahip önemli bir grup doğal ürünleri oluştururlar. Bu ana iskelete sahip dionkofilin A (**69**), Batı Afrika'da yetişen tropikal bir sarmaşık olan *Triphyophyllum peltatum* ve çeşitli *Ancistrocladus* türlerinden izole edilmiş anti-HIV, antimalaryal ve *Plasmodium falciparum* parazitinin sebep olduğu sıtmanın tedavisinde kullanılan bir doğal üründür. Dionkofilin A'dan sentetik yolla elde edilen dimer jozimin A (**70**) molekülünün ise doğal ürüne göre daha yüksek antimalaryal aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir (Bringmann vd., 1996) (Şekil 12).



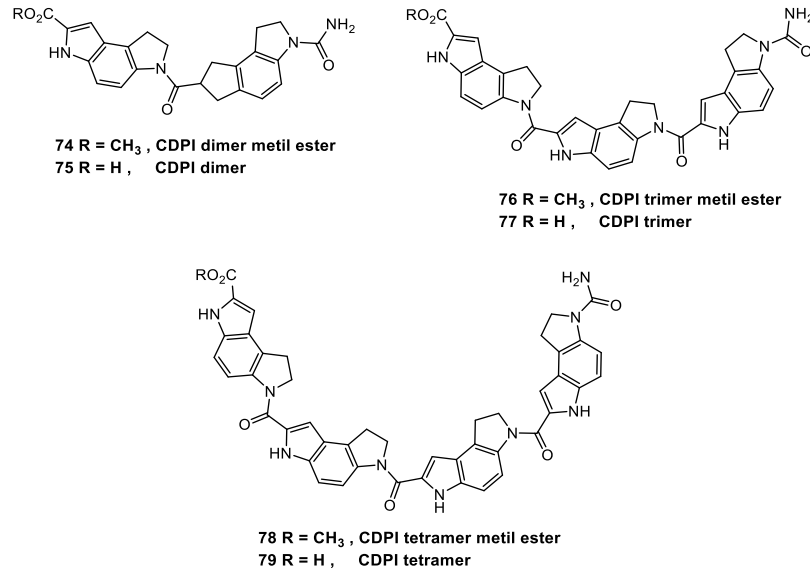
Şekil 12. Naftilizokinolin türevi dionkofilin A ve onun sentetik dimeri jozimin A

1,2-Dihidro-3*H*-pirolo[3,2-*e*]indol (PDE) *Streptomyces*'den izole edilmiş, *in vitro* çalışmalarla sitotoksik ve mikrobiyal etkisi kanıtlanmıştır. Aynı zamanda *in vivo* çalışmalarla antitümör antibiyotik olduğu belirlenmiştir (Boger vd., 1987). Son yapılan çalışmalarda ise doğal olarak elde edilen CC-1065 (**73**) (PDE-I dimer)'in, oldukça düşük konsantrasyonlarda bile biyolojik olarak aktif olduğu ve DNA'nın çift sarmal yapısına bağlanarak antitümör antibiyotik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Gram-pozitif bakterilere karşı minimum inhibitör konsantrasyonları 1-10 ng/mL arasındayken, gram-negatif bakteri ve mantarlar için değerler çoğunlukla 1 µg/mL'nin altındadır. Son derece işlevsel CC-1065 (**73**)'ün, 1978'de Umezawa ve arkadaşları tarafından daha önceden izole edilmiş ve yapısı karakterize edilmiş alt birimleri olan PDE-I (**71**) ve PDE-II (**72**), c-AMP fosfodiesteraz inhibitörleri olarak etki göstermektedir (Boger vd., 1997) (Şekil 13).



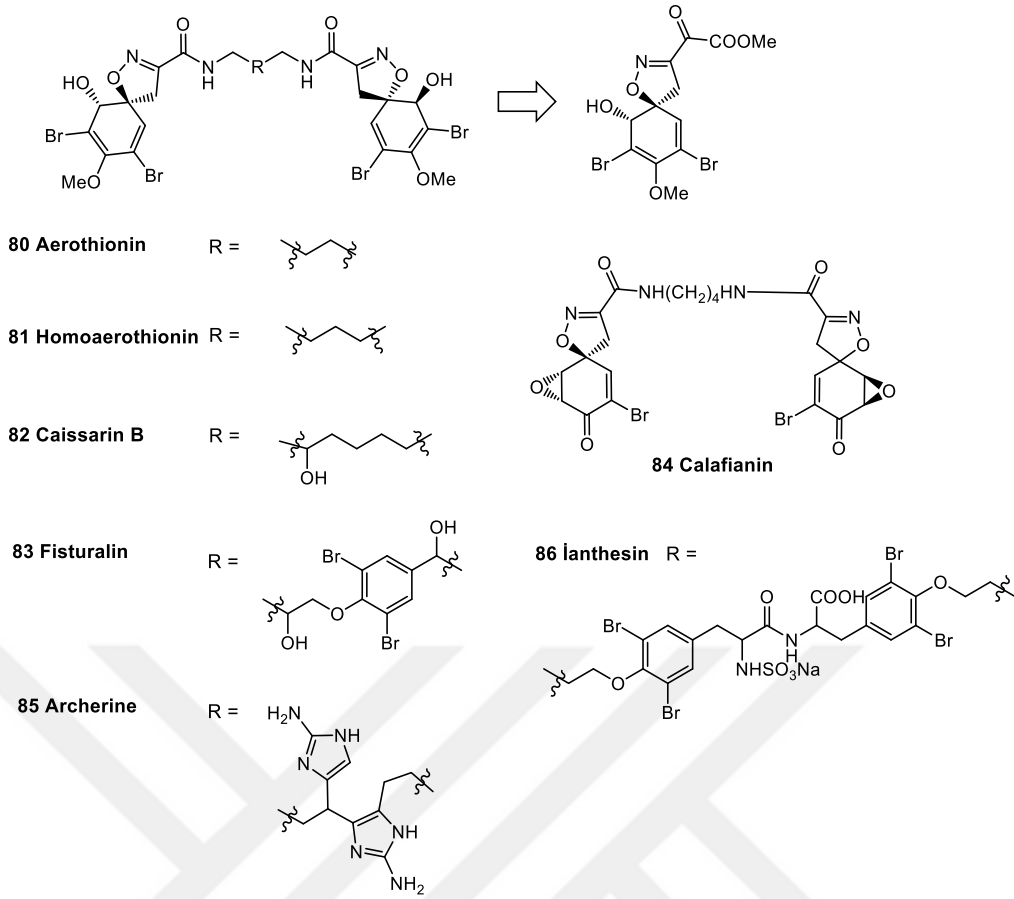
Şekil 13. Monomerik ve dimerik 1,2-Dihidro-3*H*-pirolo[3,2-*e*]indol (PDE) doğal ürünleri

PDE metil esterinin (CDPI), dimer (**74**), trimer (**76**) ve tetramer (**78**) yapıları sentetik olarak elde edilmiş ve antitümör, antibiyotik, sitotoksik, antimikrobiyal, fosfodiesteraz inhibitörü olarak etkileri belirlenmiştir. Ayrıca farelerde yapılan deneylerde hepatotoksik etki gözlenmiştir (Boger vd., 1997) (Şekil 14).



Şekil 14. PDE metil esteri (CDPI) dimer, trimer ve tetramer yapıları

Spiroizoksazolin yapı iskeletine sahip, biyolojik olarak aktif doğal ürünler *Aplysina fulva* deniz canlısından izole edilmiştir. Bunlar arasında aerotiyonin (**80**), homoaerotiyonin (**81**), caissarin B (**82**), fisturalin (**83**), calafianin (**84**) ve bunların türevleri gibi, iki spiroizoksazolin birimi taşıyan dimerik doğal ürünlerin antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri başta olmak üzere, birçok biyolojik aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir. Ayrıca archerin (**85**)'in antihistaminik etkisi ve ianthesin (**86**)'in K, Na-ATPaz inhibitör aktivitesi de gözlemlenmiştir. T. Ogamino ve arkadaşları tarafından optikçe saf (+) ve (-) aerotiyoninlerin başarılı ilk sentezi rasemik spiroizoksazolin türevinden gerçekleştirilmiştir (Ogamino vd., 2006) (Şekil 2.7).



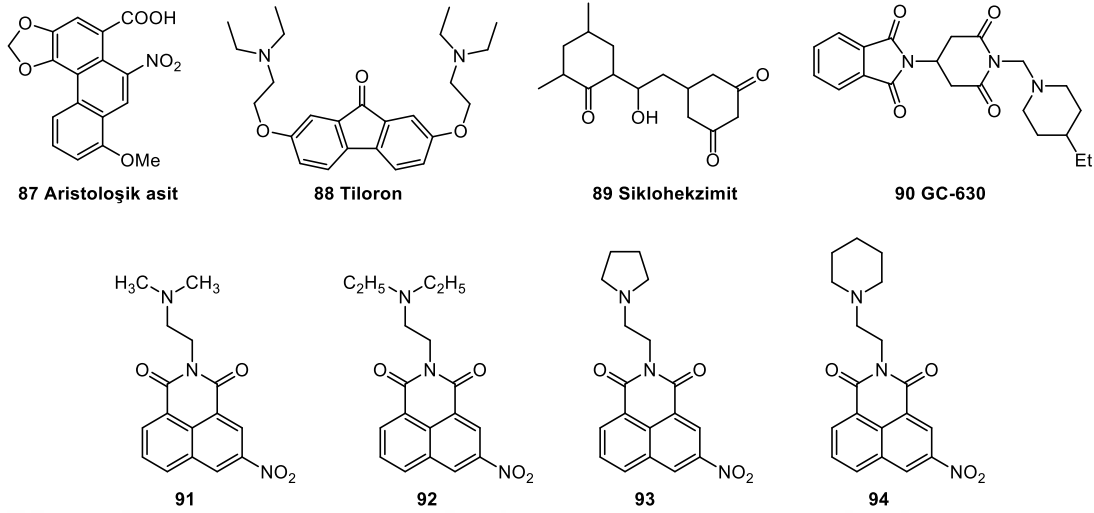
Şema 2.7. Spiroizoksazolin yapı iskeletine sahip dimerik doğal ürünler

Dimerik Antikanser Terapötikler

Monomerik ilaçların terapötik profilini iyileştirebilmek için bilinen antikanser ajanlardan yeni dimerik ilaçlar sentezlenmiştir. Genel olarak antikanser ilaçlar, 10 Å'dan 12 Å'a kadar değişen uzunluklarda aminoalkil zincirleri ile birbirlerine bağlanırlar. Bu bağlantı zinciri çoğunlukla DNA ile bağlanmayı güçlendirici, dimerin suda çözünürlüğünü artırabilen ve nötral pH'da protonlanabilen sekonder amin grupları içerir. Aromatik sistemleri içeren bazı rijit bağlayıcılar, bu tür dimerleri sentezlemek için kullanılmıştır. Çoğu zaman, α,ω -dihaloalkil zincirleri, eter ya da tiyoeterle birleşmiş iki monomerik molekülü bağlamak için kullanılır (Bérubé 2006).

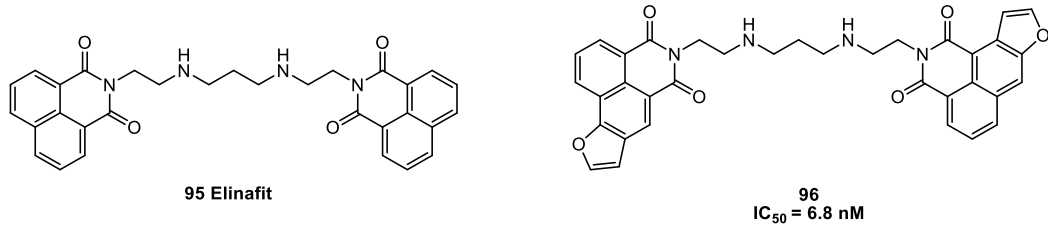
Naftalimitler çeşitli insan tümör hücreleri ve faregiller üzerine yüksek antitümör aktivitesi gösteren bileşikler sınıfıdır. Bu bileşikler çeşitli antitümör bileşiklerinin bir tek yapıda birleştirilmesiyle geliştirilmiştir. Örneğin aristoloşik asit (87)'nin nitronaftalin grubu, sikloheksimit (89) ve GC-603 (90)'ın glutarimit halkası, tiloron (88) ve GC-603 (90)'ın temel yan zinciri bir araya gelerek antitümör aktivite gösteren naftalimitler meydana gelmiştir (Şekil 15). İlk olarak dört farklı 3-nitronaftalimid türevi (91, 92, 93, 94) farklı yan zincirler kullanılarak sentezlenmiştir. Moleküllerin HeLa ve KB hücreleri üzerinde biyolojik aktivitesi

test edilmiştir ve 6-merkaptopürinden daha da güçlü sitotoksik etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Brana ve Ramos 2001) (Şekil 15).



Şekil 15. Naftalimit türevi bazı dimerik antikanser terapötikler

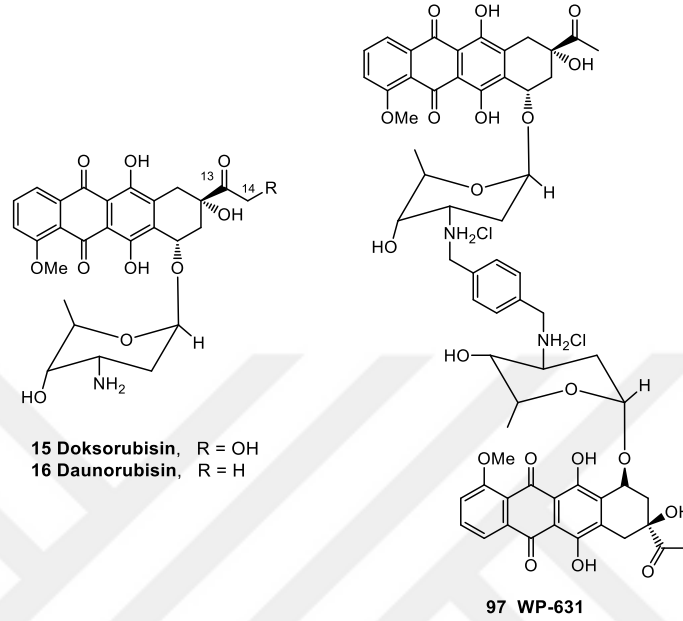
Elinafit (**95**) güçlü antitümör aktivitesine sahip bir bis-naftalimid türevidir. Elinafit'in keşfinden beri, daha iyi terapötik etkilere ulaşmak amacıyla DNA'da çeşitli çift-inzersiyona sahip olabilecek bileşikler sentezlenmiştir. Yapılan son çalışmalarla furan halkası ile kaynaşık elinafid analogu (**96**)'nın insan kolon karsinomlarına (HT-29) karşı 6.8 nM inhibisyon konsantrasyonu ile etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Brana ve Ramos 2001; Villalona-Calero vd., 2001; Awada 2003) (Şekil 16).



Şekil 16. Bis-naftalimid türevi antikanser terapötikler

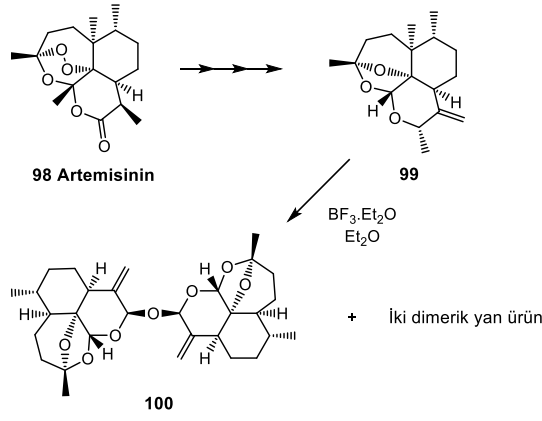
Doksorubisin (**15**) ve daunorubisin (**16**) gibi antrasiklin grubu antibiyotikler (Şekil 5), dünya çapında kullanımda olan özellikle lösemi, meme, ovaryum ve lenf başta olmak üzere birçok kanser türünün tedavisinde önemli rol oynarlar. Bunların yanı sıra miyelosüpresyon, mukozit ve saçkıran gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Fakat yapılan çalışmalarda antrasiklin antibiyotiklerin kanser tedavisinde kullanılmasının kardiyak hasara yol açması ve toksisitesinin fazla olması önemli bir sorun teşkil etmiştir. Bu sebeple moleküllerin aromatik halka sistemi içeren bağlayıcılar kullanılarak dimerlerinin sentezi ile bu toksisite sorununun ortadan kaldırılabilceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda amin substitüe *p*-ksilen linkırı ile bağlanmış dimerik daunorubisin molekülünün MCF-7'ye karşı daha dirençli olduğu ortaya konulmuştur. Amino gruplarıyla bağlanan şeker kısmının DNA ile

etkileşiminin, ilacın diğer bölgelerinden, yani C-13 ve C-14 pozisyonlarından daha az olabileceği düşünülmesine rağmen, altı halkaya sahip bis-antrasiklinlerin (**97**) DNA'ya bağlanma afinitesinin arttığı ve MCF-7 ve VP-16 hücre hatlarına karşı sitotoksik etkisinin daha güçlü olduğu ispatlanmıştır (Weiss vd., 1986; Dahl 1983; Deglin ve Vallerand 2012; Chaires 1997) (Şekil 17).



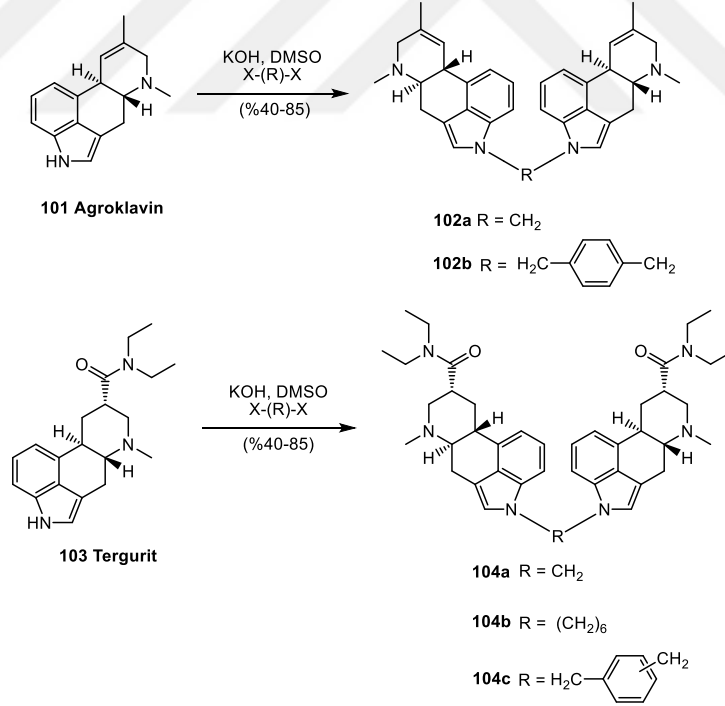
Şekil 17. Antrasiklin grubu antibiyotikler ve bis-antrasiklin yapısı

Lakton türevi terpenler antitümöral, antilösemik, sitotoksik ve antimikrobiyal etkileri nedeniyle önem kazanmışlardır. Artemisinin (**98**), *Artemisia annua* (Asteraceae)'den izole edilmiş bir seskiterpen lakton içeren bir doğal üründür (Şema 2.8.). *Plasmodium falsiparum*'un oluşturduğu, kinine direnç oluşturmuş sıtma vakalarında kullanılması önerilmektedir. Artemisinin endoperoksit köprü sistemi içermesi sebebiyle antimalaryal aktiviteye sahip olması yönünden önemli bir bileşiktir. Ayrıca kimyasal olarak kararlı, biyolojik olarak da aktif eşsiz moleküllerden biridir. Artemisin türevlerinin dimerlerinin ise sadece antimalaryal değil aynı zamanda antitümör özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. C₂-simetrik dimeri bis(dihidrodeoksiartemisin) eter (**100**), deoksiartemisin olarak bilinen çok daha az bulunan monomer **99**'un kuru dietiler içerisinde katalitik miktarda bor triflorür ile reaksiyonundan sentezlenmiştir (Şema 2.8). Dimer (**100**)'ün stereokimyası X-ray kristalografisi ile analiz edilmiş, fakat maalesef bu dimer dikkate değer bir sitotoksikite göstermemiştir (Ekthawatchai 2001; Woerdenbag vd 1993).



Şema 2.8. Biyolojik olarak aktif artemisinin dimerik yapısının sentezi

İndol ve kinolin halkalarının kondenzasyonu ile indolokinolon halkası sentezlenmiştir ve bu halka sistemini taşıyan alkaloidler ergot alkaloidleri olarak adlandırılmıştır. Doğal olarak elde edilen agroklavin (**101**) ve tergurit (**103**)’den birkaç dimer ergot alkaloidi sentezlenmiştir. Dimer (**102**) ve (**104**), DMSO içerisinde KOH kullanılarak indol N atomunun *N*-alkilasyonu ile % 40-85 arası değişen verimlerle elde edilmiştir. Aromatik bağlayıcılarla dimerleşen bileşikler lenf hücreleri üzerine yüksek sitotoksik etki (1 μM) göstermesine rağmen, diğer türevlerde sitotoksikite gözlenmemiştir (Kren 2002) (Şema 2.9).

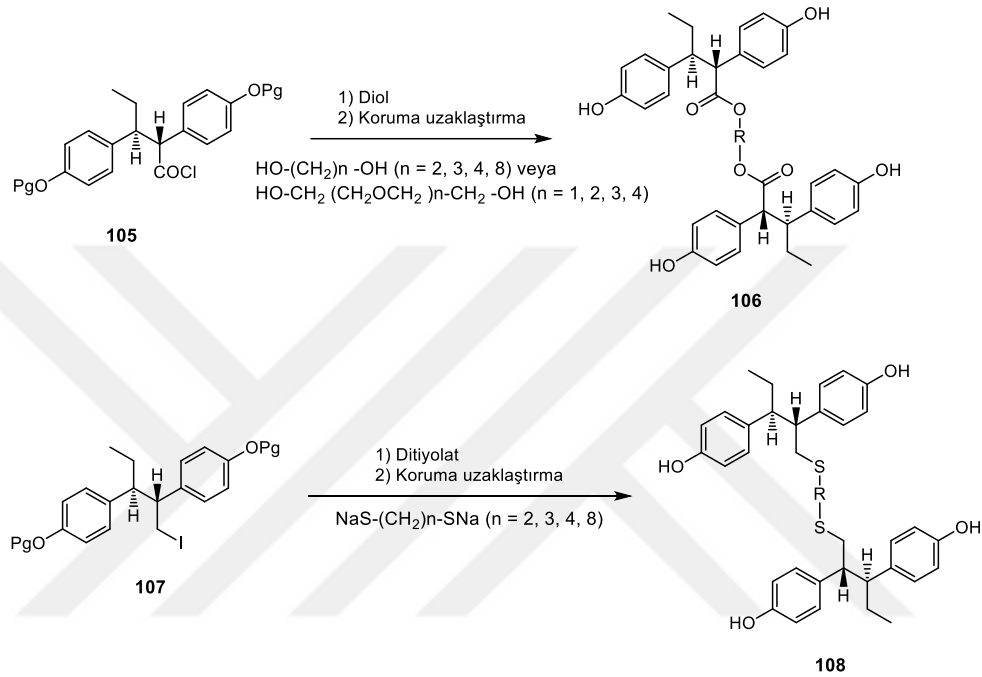


Şema 2.9. İndolokinolon halkası içeren dimerler

Dimerik Steroitler

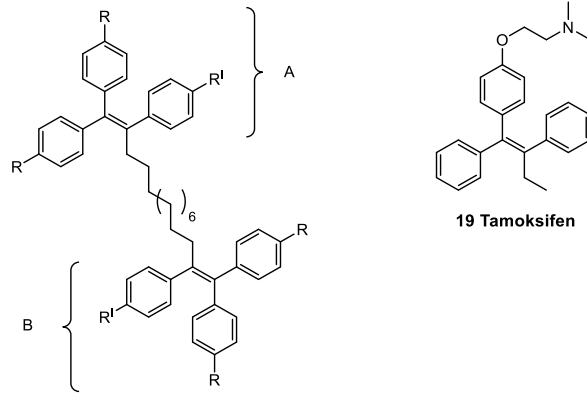
Östrojen reseptörlerinin dimerizasyonunu sağlamak amacıyla bivalent östrojen ligantlarının sentezi için araştırmacılar bazı girişimlerde bulunmuştur. İlk olarak polietilen

glikol ya da karbon bağlayıcısı ile iki hekzaestrol molekülünün eritro (veya treo) konfigürasyonları dimerleştirilmiştir. Dimer (**106**) aromatik hidroksil gruplarının uzaklaştırılmasından sonra, açıl klorür ile reaksiyona sokularak uygun bağlayıcı ile sentezlenmiştir. Alternatif olarak bazı dimerler ise alkil iyodürün nükleofilik süstitüsüyonu sonucu ditiyolat bağlayıcısı ile birbirine bağlanmıştır. Bu non-steroidal bivalent ligantların bazılarının antiöstrojenik aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir (Bergmann 1994; Groleau 1999) (Şema 2.10).



Şema 2.10. Östrojenik aktiviteye sahip bivalent ligantlar

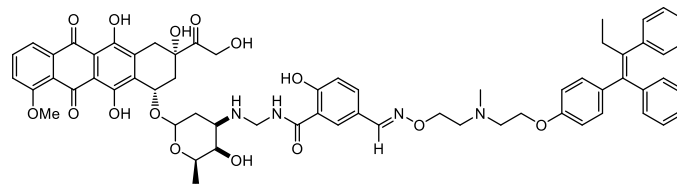
Meme kanseri tedavisi için non-steroidal homo ve hetero bifonksiyonel dimerler (**109**) tasarlanmıştır. İki trifeniletilen kısımları alifatik bir zincir tarafından bağlanmıştır. Yapıdaki aromatik halkalara bağlı olan OH grubu sayısı arttıkça sitotoksitenin arttığı gözlemlenmiştir. Altı adet hidroksil grubu taşıyan simetrik trifeniletilen dimerde ($R = R^I = OH$) sitotoksik aktivitenin, tamoksifen ile benzer olduğu belirlenmiştir (Şekil 18). Ancak dimer molekülde MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine karşı seçicilik sağlamamıştır (Groleau 1999).



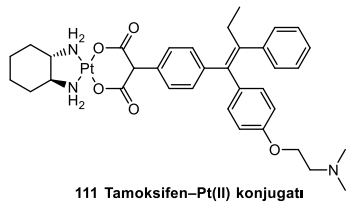
109 Trifeniletilen dimerler
R ve R' = H veya OH
Homobifonksiyonel (A = B)
Heterobifonksiyonel (A ≠ B)

Şekil 18. Tamoksifen ve non-steroidal homo ve hetero bifonksiyonel dimerleri

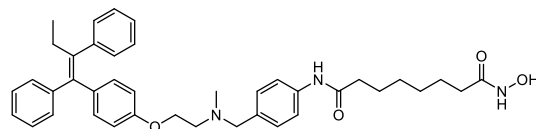
Tamoksifen hormona dayalı meme kanseri tedavisinde önde gelen bir ilaç olmasına rağmen, antiöstrojen tedavisinde birçok hastada kendiliğinden gelişen tamoksifen direnci büyük bir sorun teşkil etmektedir. Bunun yanı sıra tamoksifen tedavisinde endometrial kanserinin oluşması da düşük risk faktörleri arasındadır. Terapötik aktiviteyi iyileştirmek, ilaç direncini azaltmak için tamoksifen tedavisinde biyoaktif ilaçların kombine edilebileceği düşünülmüştür. Bundan hareketle Koch ve arkadaşları 4-hidroksitamoksifen-formaldehit-doksorubisin (**110**) konjugatlarını hazırlayarak etkili bir ilaç sentezlemeyi başarmışlardır. Daha sonra farklı bir çalışma grubu etkili bir kanser ilacı olan platin ile tamoksifeni kombine ederek yeni bir konjugat (**111**) elde etmiştir. B. E. Gryder ve grubu da kanser tedavisinde etkili bir inhibitör olan histon deasetilaz inhibitörü ile tamoksifen-vorinostat (**112**) yapısını elde ederek *in vitro* çalışmalarda başarıya ulaşmıştır. İlacın östrojen reseptörleri üzerinde mükemmel antagonistik etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Hu vd., 2018) (Şekil 19).



110 Tamoksifen–Doksorubisin konjugatı



111 Tamoksifen–Pt(II) konjugatı



112 Tamoksifen–Vorinostat konjugatı

Şekil 19. Tamoksifen konjugatları

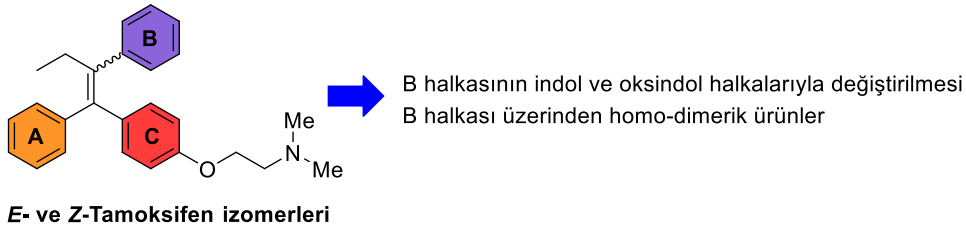
Tez Çalışmasının Amacı

Kanser, iyileşmesi ve tedavisi uzun süreç gerektiren, toplum üzerinde psikolojik ve ekonomik olarak zararlı etkiler bırakan bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü'nün araştırma sonuçlarına göre kanser hastalığının, gelecek 20 yılda 22 milyon insanda görüleceği ve bunların en az %65'inin ölümlerle sonuçlanacağı düşüncesi, kanserle mücadelenin önemli bir ilgi alanı olmasına neden olmuştur. Bu sebeple, kanserle ilgili bilgi ihtiyacının karşılanması, kanserin erken tanısı, tedavisi, kanserden koruyucu önlemlerin geliştirilmesi ve bunların hayata geçirilmesi için birçok bilimsel çalışma gerçekleştirilmiştir.

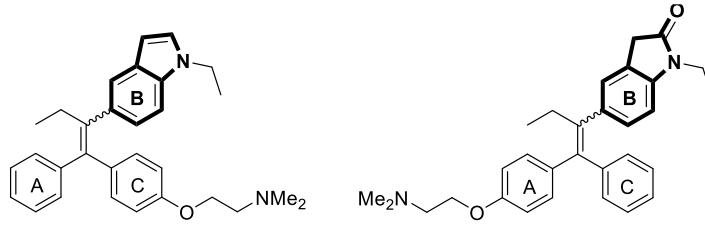
Kanserin tedavisinde kullanılan cerrahi yöntemlerde, tümör dokuları ameliyat ile uzaklaştırılır. Bununla birlikte kanser minimum seviyeye düşer fakat tümör tam olarak tedavi edilmediği için cerrahi işlemler kesin bir tedavi sunmaz. Hastanın cerrahi operasyon sonrasında kemoterapi ile tedavi edilmesi gerekir. Kemoterapide ise kanser hücrelerinin morfolojisi dikkate alınır ve her bir kanser türünün farklı özelliklerine göre ilaç tedavisi geliştirilir (Pudata vd., 2012; Urruticoechea vd., 2010). Kemoterapideki başarılar rağmen, kullanılan kimyasalların farklı organ ve dokularda toksisiteye sebep olması ile yan etkiler oluşması halen daha büyük bir sorundur. Toksikite kullanılan ilaca, ilacın dozu ve farmakokinetik özelliklerine ya da hasta faktörlerine göre değişiklik gösterebilir (Dickens ve Ahmed, 2018).

Literatürdeki bu bilgiler göz önüne alınarak kanserin kemoterapötik ilaç tedavisiyle beraber, hastaların maruz kaldığı yıkıcı yan etkilerin mümkün oldukça ortadan kaldırılması ya da en aza indirilebilmesi için çalışmalara devam edilmektedir.

Bu tez çalışması, meme kanseri tedavisinde günümüzde kullanılmakta olan tamoksifen ilacının, yapısında bulunan A, B ve C olarak işaretlenen fenil gruplarından B halkası yerine indol ve oksindol halkalarının bulunduğu yeni jenerasyon triariletan analoglarını hazırlamak ve homo-dimer tamoksifenler için yeni metodolojiler geliştirmeyi hedeflemektedir (Şekil 20 ve 21).

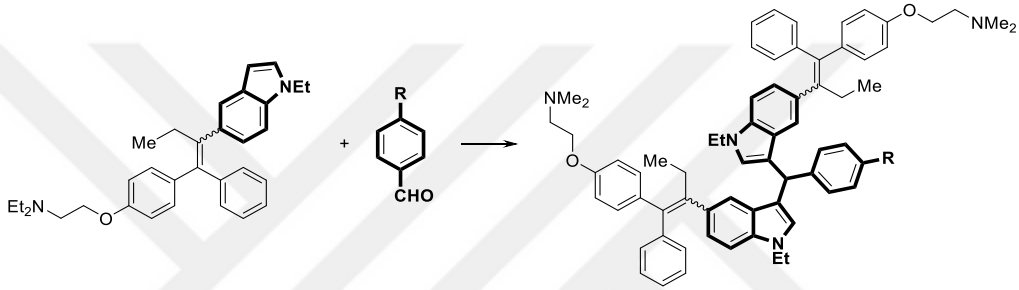


Şekil 20. Sentez planı

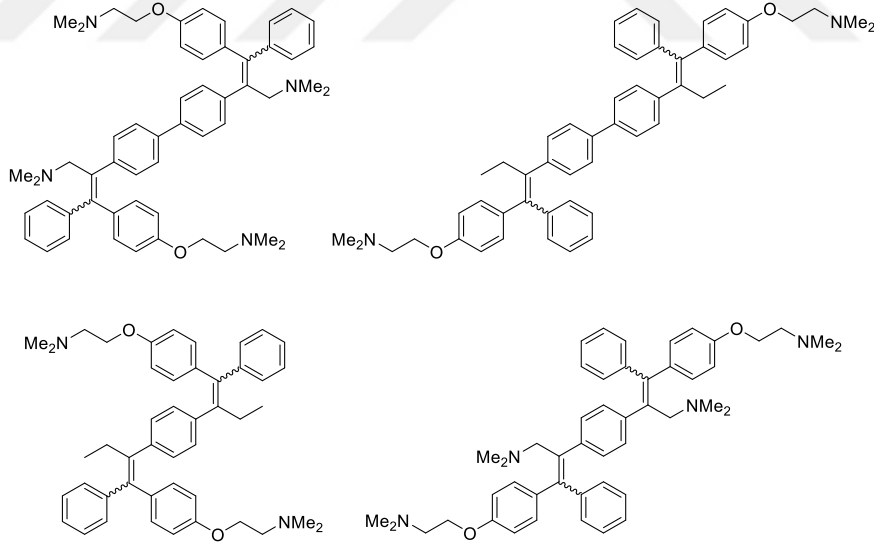


Şekil 21. Tamoksifenin B halkasının modifikasyonu

Çalışmada elde edilen tamoksifen-temelli indol türevlerinin ilgili benzaldehitlerle reaksiyonlarından C3-pozisyonu üzerinden dimerizasyonu gerçekleştirilerek, yapısında tamoksifen iskeleti bulunan bis(indolil)metan türevlerinin sentezleri de hedeflenmiştir (Şema 2.11). Ayrıca tamoksifen iskeletinin fenil halkası üzerinden homo-dimer yapılarını hazırlanması hedeflenmiştir (Şekil 22).



Şema 2.11. Tamoksifenin C3-pozisyonu üzerinden tasarlanan dimerleri



Şekil 22. Tamoksifenin fenil halkası üzerinden tasarlanan dimerleri

Ayrıca, elde edilen yeni bileşiklerin sitotoksik ve apoptotik etkilerinin incelenmesi ve bu etkilerini östrojen reseptörü üzerinden gösterdiğinin doğrulanması hedeflenmiştir. Bu kapsamda östrojene bağlı meme kanseri hücre hattı MCF-7, üçlü negatif hücre hattı MDA-MB-231 ve normal meme epitel hücre hattı MCF10A kullanılarak bileşiklerin sitotoksik etkisinin, doz ve zaman bağımlı olarak incelenmesi planlanmıştır. Bu bileşiklerin apoptotik etkisi,

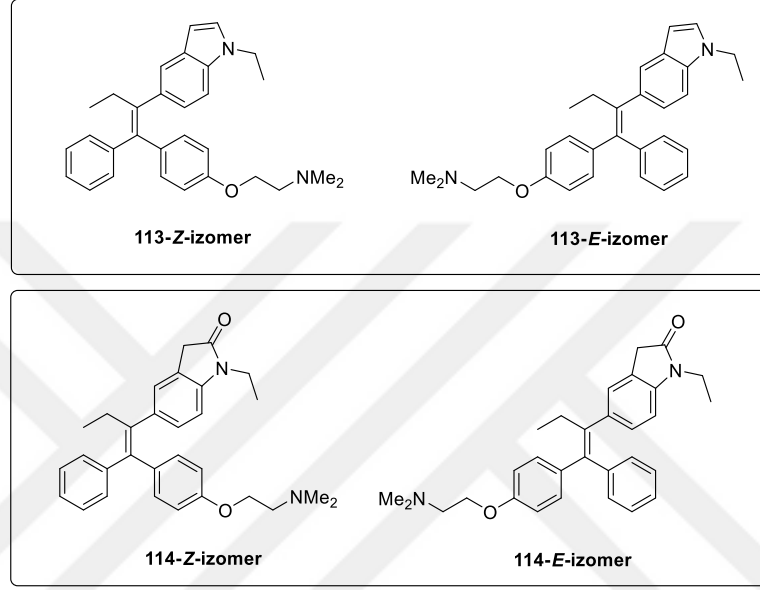
Kaspase-8'in kolorimetrik testler ile ve östrojen reseptör hedef genlerinin ifadeleri Real Time PCR (qPCR) yapılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.



MATERYAL VE METOT

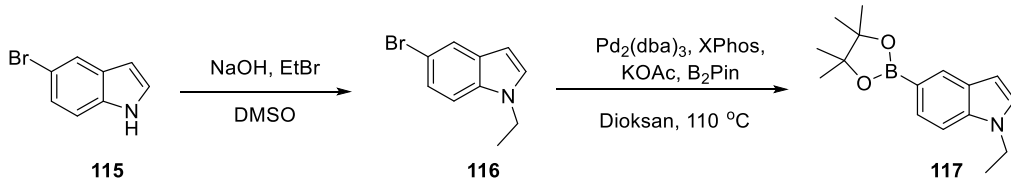
Tamoksifen Temelli İndol ve Oksindol Türevlerinin Sentezi

Bu çalışmada, Şekil 23’de verilen yeni indol ve oksindol modifiye tamoksifen türevleri (**Z-113**, **E-113** ve **Z-114**, **E-114**) literatürde bilinen yöntemlerle sentezlenmiştir.



Şekil 23. Tamoksifenin B halkasının indol ve oksindol ile modifikasyonu

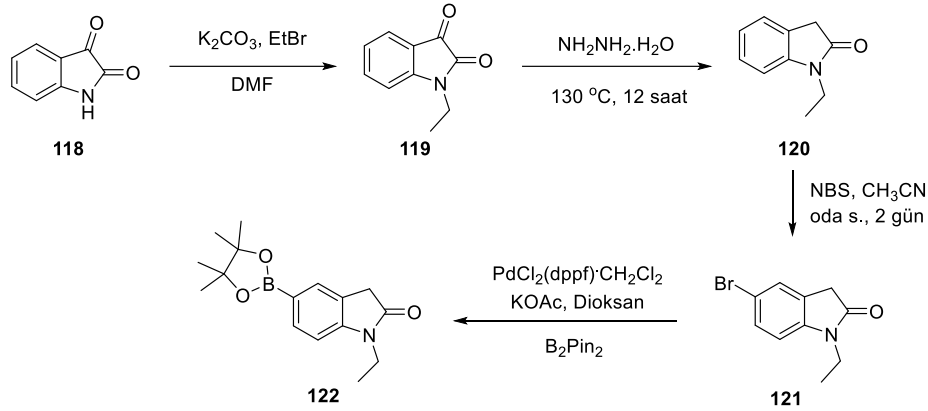
Hedef bileşiklerin sentezi için ilk önce ilgili indol ve oksindol boronik ester türevleri (**117** ve **122**) literatürde verilen sentez yöntemleri ile elde edilmiştir (Şema 3.1 ve 3.2). İndol boronik ester **117**'nin sentezi için ilk olarak 5-bromoindol (**115**)'in azot atomunun etil bromür ile korunmasıyla 5-bromo-1-etil-1*H*-indol (**116**) elde edildi (Deb vd., 2017). Ardından molekülün bis(pinakolato)dibor (B_2pin_2) ile reaksiyonu sonucu pinakolat esteri (**117**)'ye dönüştürülmüştür (Bartolucci vd., 2011) (Şema 3.1).



Şema 3.1. İndol boronik esterinin sentezi

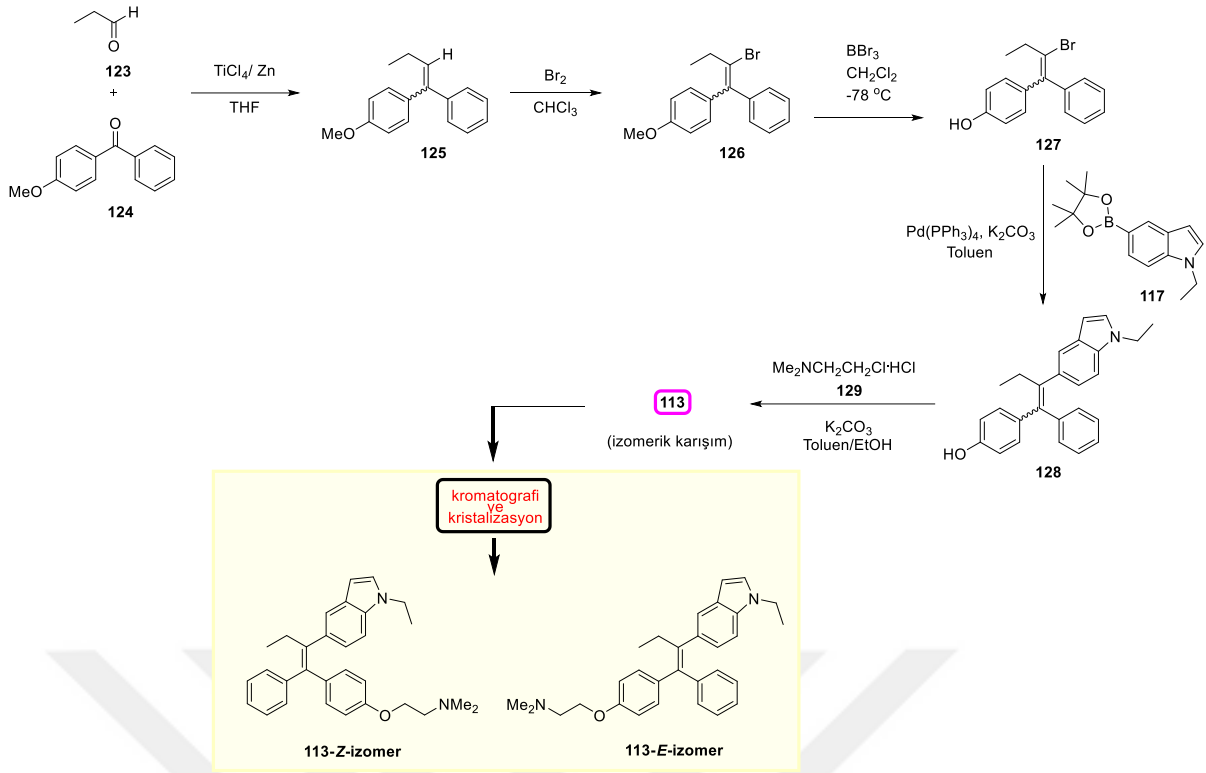
Bir diğer boronik ester türevi **122**'nin sentezi için ilk olarak isatin (**118**) molekülünün azot atomu etil grubu ile korundu. Elde edilen 1-etilindolin-2,3-dion (**119**)'un hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucu oksindol türevi 1-etilindolin-2-one (**120**) elde edildi (Chen vd., 2019). Daha sonra molekülün *N*-bromosüksinimid ile bromlanmasıyla 5-bromo-1-etilindolin-2-on

(**121**) sentezlendi (Holzschneider vd., 2018). Elde edilen oksindol türevinin bis(pinakolato)dibor (B_2pin_2) ile reaksiyonundan, 1-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-doksaborolan-2-il)indolin-2-on (**122**) elde edildi (Grundl vd., 2013) (Şema 3.2).

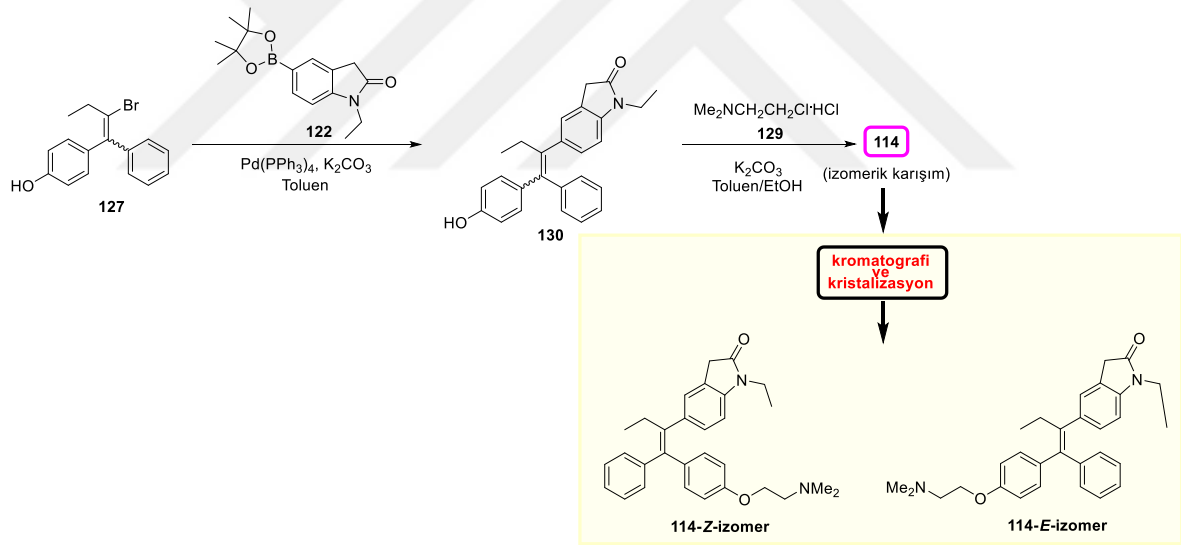


Şema 3.2. Oxindol boronik esterinin sentezi

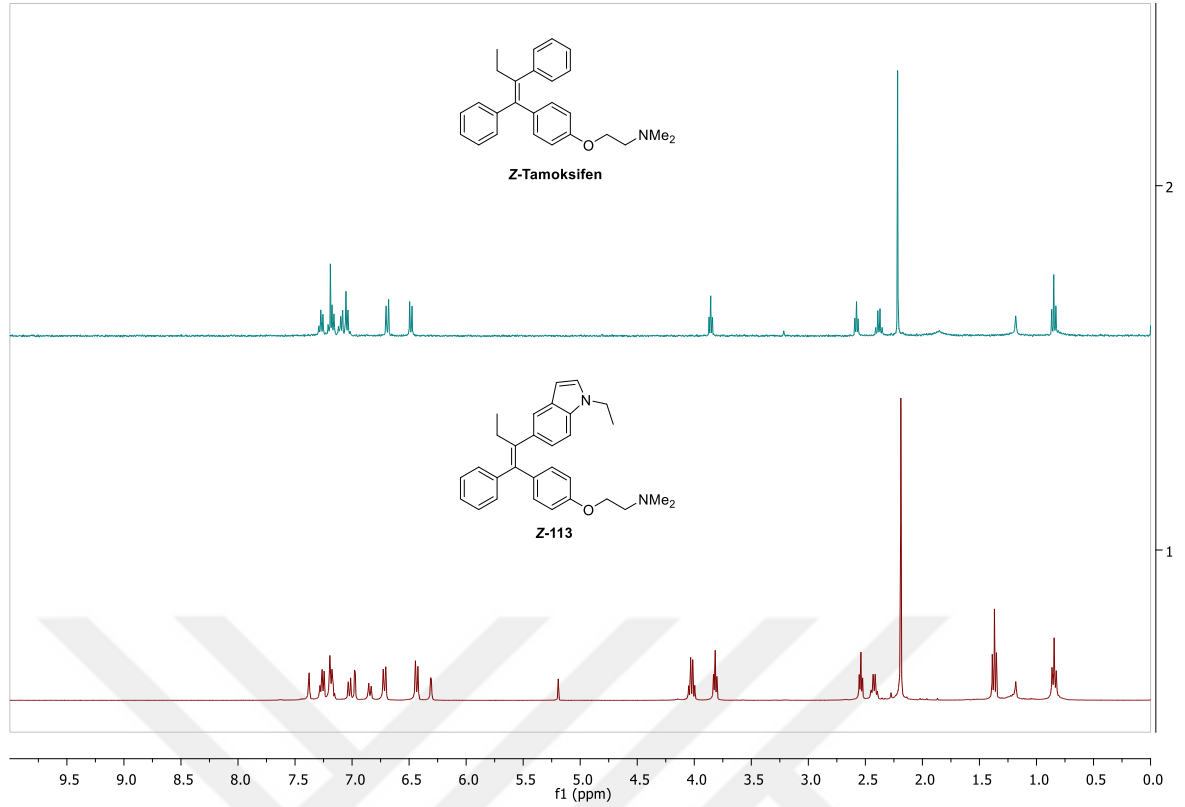
Tamoksifenin etilen iskeletini hazırlamak için propanal (**123**) ve 4-metoksibenzofenon (**124**), destile THF içerisinde, $TiCl_4$ ve Zn varlığında McMurry kenetlenme reaksiyona sokulmuştur (Zhu vd., 2010) (Şema 3.3). Elde edilen etilen türevi **125**'in, moleküler bromla reaksiyonundan alkenil bromür **126**, literatürde belirtildiği gibi elde edilmiştir (Jana ve Ghora 2012). Ardından metoksi grubunun demetilasyonu ile fenolik bileşik **127** hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan indol boronik ester türevi **117** (Ha vd., 2018) ile fenolik vinilbromür **127**, Suzuki reaksiyonuna sunularak fenolik tamoksifen iskeleti **128** elde edilmiştir (Kuriyama vd., 2014). Tamoksifen molekülünde antiöstrojenik aktivite için gerekli olan amin grubunun moleküle bağlanması, 2-kloro-*N,N*-dimetiletilamin (**129**) ile literatürde gösterildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Fujii vd, 2019) (Şema 3.3). İzomerik ürün karışımının ayırımı ve saflaştırmasında kromatografik (kolon ve ince tabaka) yöntemler ve kristalizasyon kullanılarak saf izomerler **Z-113** ve **E-113** elde edilmiş ve yapıları spektroskopik olarak belirlenmiştir (Şema 3.3). Hazırlanan oksindol boronik ester türevi **122** ve vinilbromür **127**'nin Suzuki kenetlenme tepkimesi ve ardından kenetlenme ürünü **130**'un yerdeğiştirme tepkimesine (Ha vd., 2018) sunulmasıyla tamoksifen-temelli oksindol türevi **114**'ün sentezi de gerçekleştirilmiştir (Şema 3.4). Oksindol modifiye-tamoksifen izomerleri **Z-114** ve **E-114** de kromatografi ve kristallendirme yöntemleri ile saflaştırılıp, karakterize edilmiştir. Elde edilen tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevlerinin saflık derecesi HPLC ile (saflık derecesi >%95) belirlenmiştir.



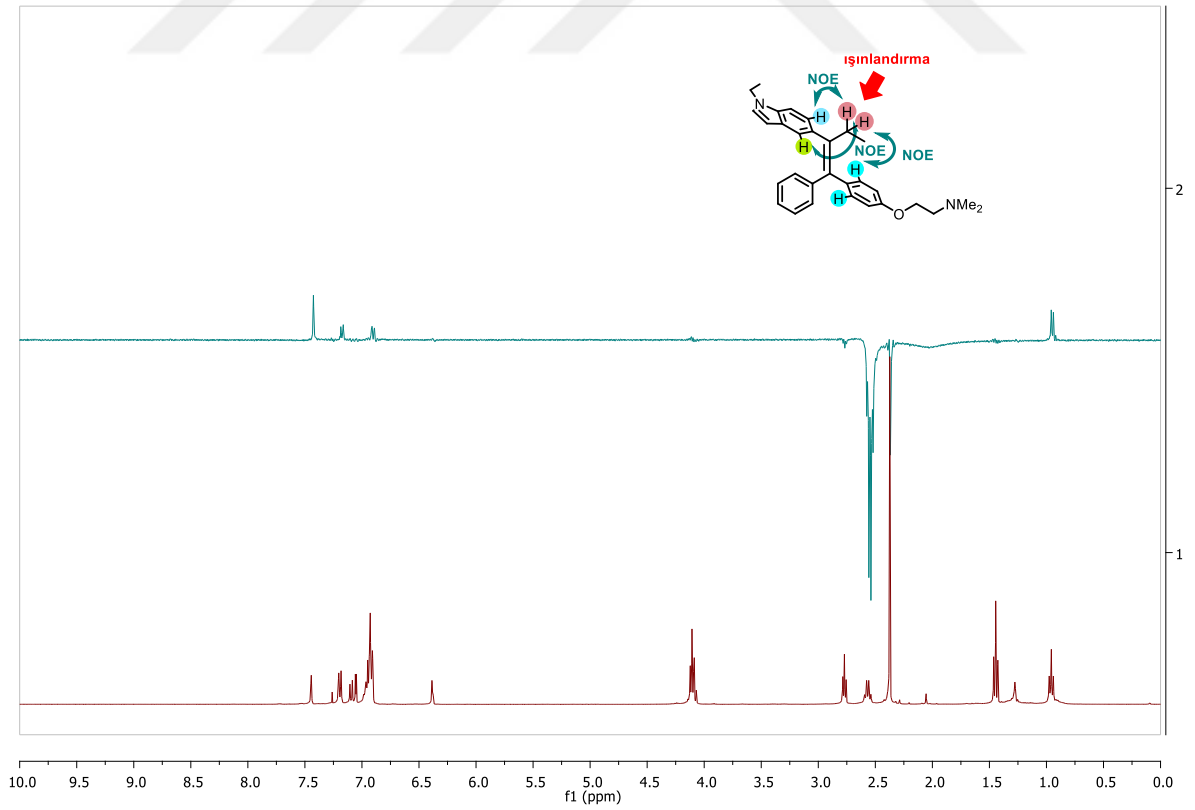
Şema 3.3. Tamoksifen-temelli indol türevlerinin sentezi



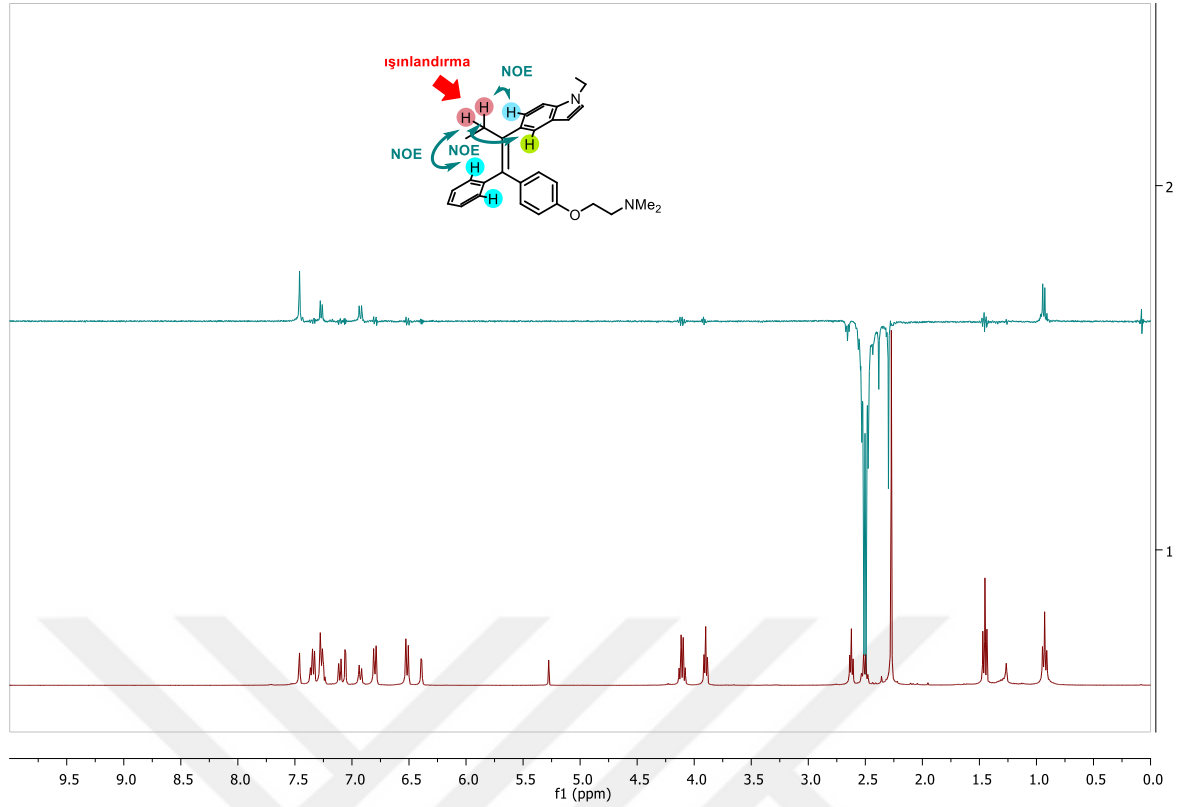
Şema 3.4. Tamoksifen-temelli oxindol türevlerinin sentezi



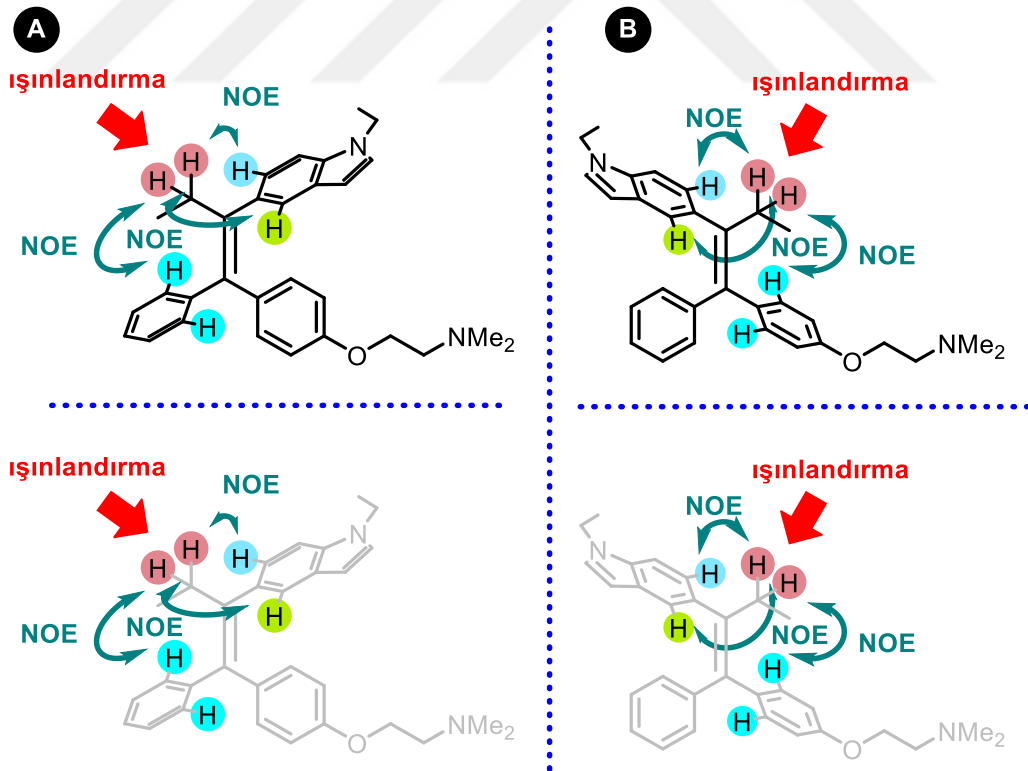
Şekil 24. Z-Tamoksifen ve Z-113 bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarının karşılaştırılması



Şekil 25. E-113 bileşiğinin ^1H NMR ve ^1H NOE NMR spektrumları



Şekil 26. Z-113 bileşiğinin ^1H NMR ve ^1H NOE NMR spektrumları



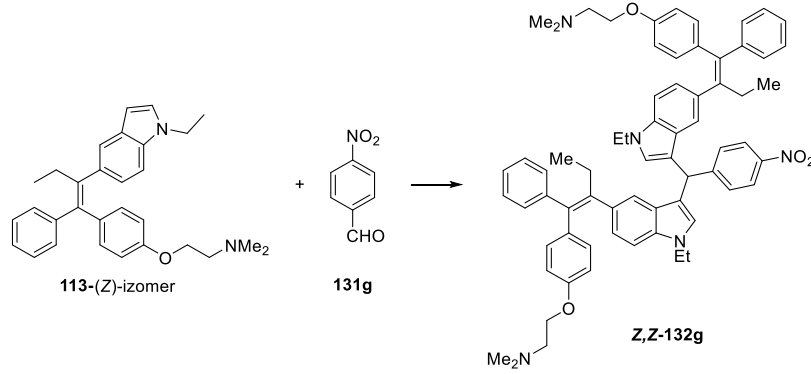
Şekil 27. Z-113 ve E-113 bileşiklerinin ^1H NMR ve ^1H NOE NMR spektrumları

Sentezlenen tamoksifen-temelli E-113 ve Z-113 bileşikleri izomerik yapılarıdır. Bu bileşiklerin yapı karakterizasyonları NMR ve kütle spektroskopileri ile gerçekleştirildi. Şekil

24'de **Z-tamoksifen** ve **Z-113** bileşiklerin ¹H NMR spektrumları verilmiştir. Bu spektrumlar karşılaştırıldığında tamoksifen iskeletinde bulunan aromatik halka protonlarının 6.5-7.5 ppm aralığında rezonans olduğu görülmektedir. Aynı şekilde **Z-113** bileşiğine ait aromatik protonlarda benzer yerlerde rezonans olmaktadır. Burada en belirleyici sinyal ise fenolik halkadaki protonlara ait AA'BB' sisteminin rezonans olduğu yerdir. Z-İzomerde bu sistem diğer aromatik protonlardan belirgin bir şekilde ayrılarak rezonans olduğu görülmektedir. Dolayısıyla sentezlenen bileşiklerin E- ya da Z-izomer olması bu AA'BB' sisteminin yeri ile kıyaslanarak belirlenmiştir. **E-Tamoksifen** bileşiğinin literatürdeki ¹H NMR spektrumu incelendiğinde tıpkı **E-113** bileşiğinde olduğu gibi aromatik protonlara ait rezonans sinyalleri daha dar bir alanda rezonans olmaktadır. Kısacası bu bileşiklerin ve bundan sonra sentezlenen diğer tamoksifen-temelli bileşiklerin yapıları tamoksifen bileşiklerinin fenolik halkasına ait aromatik protonlarının AA'BB' spin sistemlerinin yerleri ile kıyaslanarak belirlenmiştir. Ayrıca hem **E-113** hem de **Z-113** bileşiğindeki vinilik protonların ¹H NMR spektrumları alınarak da yapıların önerildiği şekilde olduğu doğrulanmıştır (Şekil 25 ve 26). NOE (Nuclear Overhauser Effect) korelasyonları, çekirdekler arası mesafeyi tahmin etmek ve yapıyı belirlemek için kullanılan önemli bir NMR tekniğidir. Işınlandırılan bir proton aynı uzayı paylaştığı diğer protonları etkilemektedir ve bu korelasyonlar yapıyı tahmin etmede oldukça önemlidir. Şekil 25'deki NOE spektrumu incelendiğinde **E-113** bileşiğindeki ışınlandırılan metilenik protonların, fenolik halkanın bağlantı noktasına *orto*-konumdaki hidrojenler (AA'BB' sistemine ait iki proton) ile indol halkasının C4- ve C6-karbonlarındaki hidrojenlerle korelasyonunun olduğu görülmektedir. Aynı şekilde **Z-113** bileşiğindeki vinilik metilenik protonların ışınlandırıldığında, fenil halkasının bağlantı noktasına *orto*-konumdaki hidrojenler ile yine indol halkasının C4- ve C6-karbonlarındaki hidrojenlerle korelasyonlardan bu protonlarla aynı uzayı paylaştığı gözükmemektedir (Şekil 26). Şekil 27'de bu korelasyonlar ayrı bir şekilde verilmiştir.

İndol Üzerinden Dimerik Tamoksifenlerin Hazırlanması

Tamoksifen-temelli indol moleküllerinin C3-pozisyonu üzerinden dimerizasyonu, literatürde verilen bis(indolil)metan sentez yöntemleriyle denendi (Lafzi vd., 2019). İlk önce optimize reaksiyon şartları belirlendi (Tablo 2 ve 3).

Tablo 2. Reaksiyon Şartlarının Optimizasyonu (**Z,Z-132g** için)

Sıra	Katalizör	Çözücü	Sıcaklık (°C)	Zaman (saat)	Verim (%)
1	Bi(NO ₃) ₃ .5H ₂ O	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
2	Zn(OAc) ₂	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
3	Zn(OAc) ₂	CH ₂ Cl ₂	50	12	-
4	Zn(OAc) ₂	MeCN	80	12	-
5	Cu(OTf) ₂	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
6	Bi(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
7	Bi(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	50	12	-
8	Sc(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
9	Sn(OTf) ₂	HFIP	25	5	-
10	-	HFIP	25	12	90
11	-	HFIP	50	12	90
12	-	TFE	25	12	-
13	-	TFE	80	12	70
14	TFA	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
15	-	CH ₂ Cl ₂ : HFIP (1:1)	25	12	-

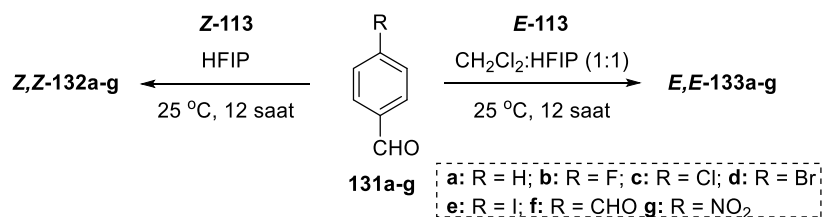
İlgili bis(indolil)metanların sentezi için model aldehit olarak *p*-nitrobenzaldehit (**131g**) seçildi. **Z-113** ve nitrobenzaldehit **131g** arasındaki reaksiyon katalizör olarak çeşitli Lewis ve Bronsted asitleri kullanılarak gerçekleştirildi (Tablo 2, sıra 1-14). Katalizör olarak Bi(NO₃)₃.5H₂O, Zn(OAc)₂, Cu(OTf)₂, Bi(OTf)₃, Sc(OTf)₃ ve Sn(OTf)₂ gibi Lewis asitleri metilenklorür, asetonitril ve heksafloroizopropanol (HFIP) çözücüleri içerisinde 25-80 °C aralığındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilen reaksiyonlarda beklenen ürün oluşumu gerçekleşmedi (Tablo 2, sıra 1-9). Katalizör kullanmaksızın HFIP ve 2,2,2-trifloroetanol (TFE) çözücüleri içerisinde 25-80 °C aralığındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilen reaksiyonlardan istenen ürün **Z,Z-132f** %70-90 aralığında verimle elde edildi (Tablo 2, sıra 10-13). Reaksiyon trifloroasetik asit (TFA) katalizli olarak metilenklorür içerisinde gerçekleşmedi (Tablo 2, sıra 14). Aynı şekilde metilenklorür ve HFIP çözücü karışımında da reaksiyon gerçekleşmedi (Tablo 2, sıra 15). Bu sonuçlara göre HFIP içerisinde oda sıcaklığında %90 verimle gerçekleşen

reaksiyon şartları optimize reaksiyon şartları olarak belirlendi (Tablo 2, sıra 10). Aynı şekilde bis(indolil)metan türevi *E,E*-133f'nin sentezi için de optimize reaksiyon şartları araştırıldı (Tablo 3, sıra 1-12). Katalizör, çözücü ve sıcaklık parametreleri değiştirilerek *E*-113 ve 131f arasındaki reaksiyon incelendi. Oda sıcaklığında 1:1 oranındaki metilen klorür ve HFIP karışımı içerisinde %90 verimle *E,E*-133f'nin elde edildiği şartlar en uygun reaksiyon şartları olarak belirlendi (Tablo 3, sıra 10).

Tablo 3. Reaksiyon Şartlarının Optimizasyonu (*E,E*-133g için).

Sıra	Katalizör	Çözücü	Sıcaklık (°C)	Zaman (saat)	Verim (%)
1	Bi(NO ₃) ₃ ·5H ₂ O	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
2	Zn(OAc) ₂	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
3	Zn(OAc) ₂	CH ₂ Cl ₂	50	12	-
4	Zn(OAc) ₂	MeCN	80	12	-
5	Cu(OTf) ₂	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
6	Bi(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
7	Bi(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	50	12	-
8	Sc(OTf) ₃	CH ₂ Cl ₂	25	12	-
9	-	HFIP	25	12	-
10	-	CH ₂ Cl ₂ : HFIP (1:1)	25	12	90
11	Sn(OTf) ₂	HFIP	25	5	-
12	-	HFIP	60	5	-

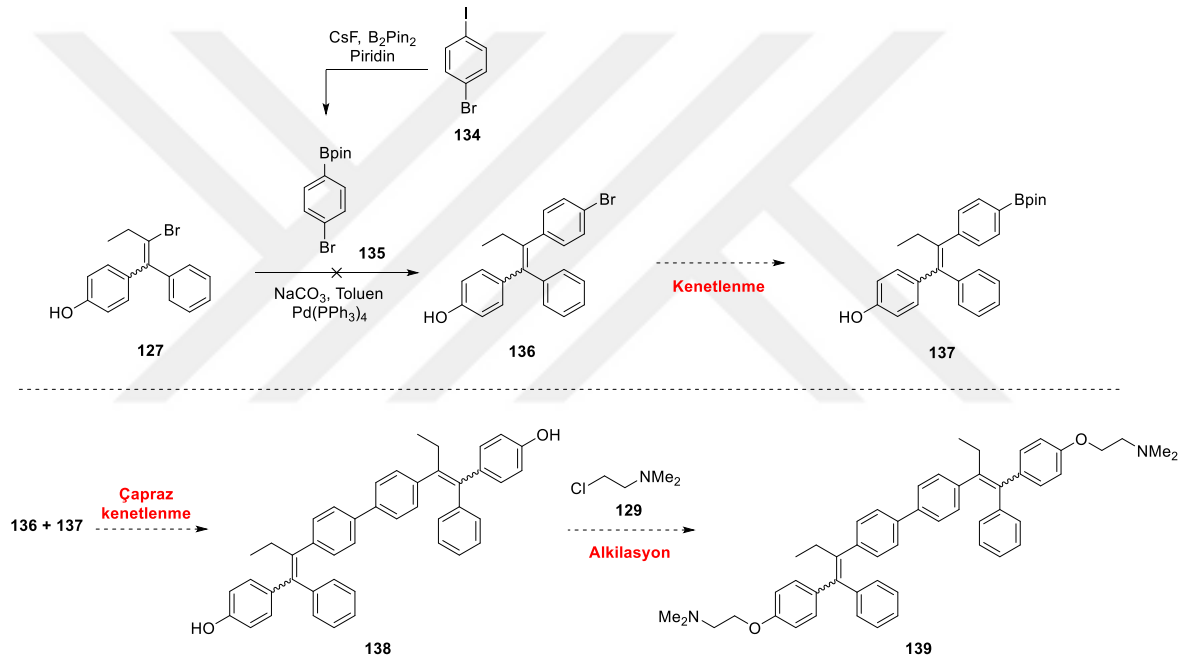
Optimize reaksiyon şartları belirlendikten sonra bir seri benzaldehit (**131a-g**) ile tamoksifen-temelli indol türevleri *Z*-113 ve *E*-113 reaksiyona sokularak yeni tamoksifen-bis(indolil)metan türevleri *Z,Z*-132a-g ve *E,E*-133a-g bileşiklerinin sentezleri gerçekleştirildi (Şema 2.16). Elde edilen tamoksifen-bis(indolil)metanların saflık derecesi HPLC ile (saflık derecesi >%95) belirlenmiştir.



Şema 3.5. *Z,Z*-132a-g ve *E,E*-133a-g bileşiklerinin sentez şeması

Dimerik Tamoksifenlerin Hazırlanmasında Suzuki Reaksiyonunun Kullanılabilirliğinin Araştırılması

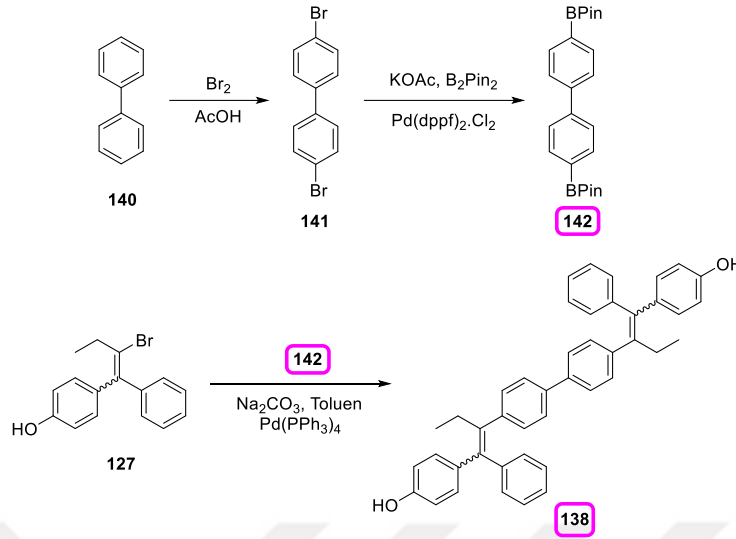
Tamoksifen molekülünün fenil halkası üzerinden hem de alkil zinciri üzerindeki azot atomu üzerinden homo dimerik yapılarının elde edilmesi de hedeflenmiştir. Fenil halkası üzerinden dimerik bileşiğin öncüsü olarak ilk önce izomerik bromo-triariletilen türevi **136**'nın sentezi hedeflendi (Şema 3.6). Ancak vinilbromür **127** ile bromo-fenilboranik asit pinakolat esteri **135** arasındaki Suzuki kenetlenme tepkimesi gerçekleşmedi (Kuriyama vd., 2014). Tepkimede vinilbromür **127**, tepkimeye girmeden geri kazanıldı. Hedeflenen bileşik bromo-triariletilen türevi **136** elde edilemediği için ilgili boronik asit ester **137**'nin sentezine gidilemedi. Bu yüzden daha sonraki çapraz kenetlenme ve alkilasyon tepkimeleri bu yolla gerçekleştirilemedi (Şema 3.6).



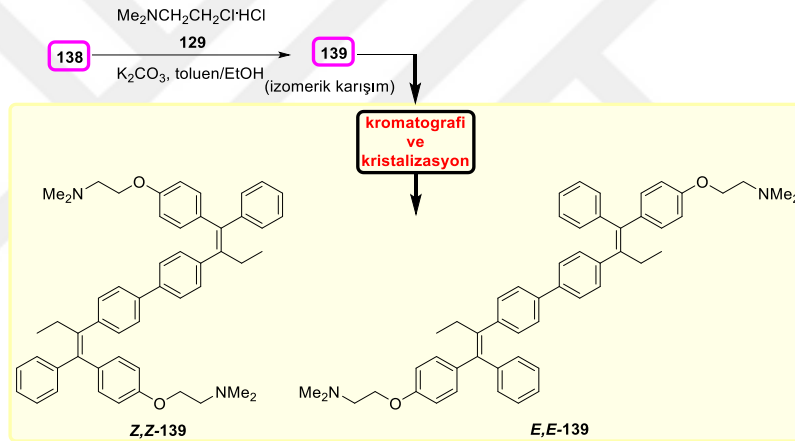
Şema 3.6. Dimerik tamoksifen **139**'un Suzuki kenetlenmesi ile tasarlanan sentezi

Şema 3.6'da gösterilen tepkimeler gerçekleştirilemeyince, dimerik bileşik **139**'u elde etmek için başka bir sentez tasarlandı (Şema 3.7). Bunun için ilk önce 1,1'-bifenil (**140**) molekülünün bromlanması ile dibromobifenil **141**, ardından bis(pinakolato)dibor (B_2pin_2) ile reaksiyonundan bispinakolat esteri **142** elde edildi (Şema 3.7). Daha sonra 4,4'-bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1,1'-bifenil (**142**) ve vinilbromür **127** paladyum katalizli kenetlenme tepkimesine sunuldu ve fenolik dimer **138** elde edildi (Şema 3.7). Dimerik bileşik **138**'in 2-kloro-*N,N*-dimetiletilamin (**129**) ile alkilasyonu sonucu hedeflenen dimerik molekül **139** izomerik karışım halinde elde edildi. Kromatografik yöntemler ve kristalizasyon

kullanılarak izomerler **Z,Z-139** ve **E,E-139** saflaştırıldı ve yapıları spektroskopik olarak karakterize edildi (Şema 3.8).

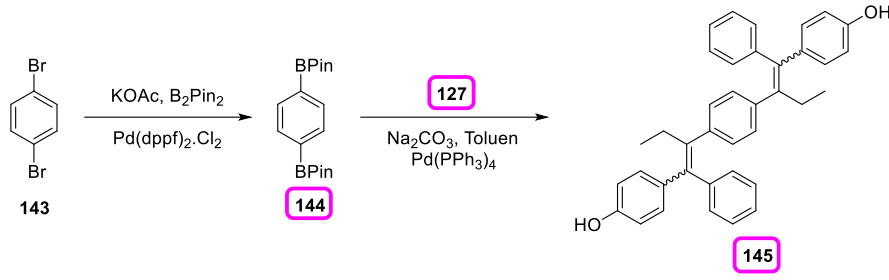


Şema 3.7. Fenolik dimer (**138**)'in sentez şeması

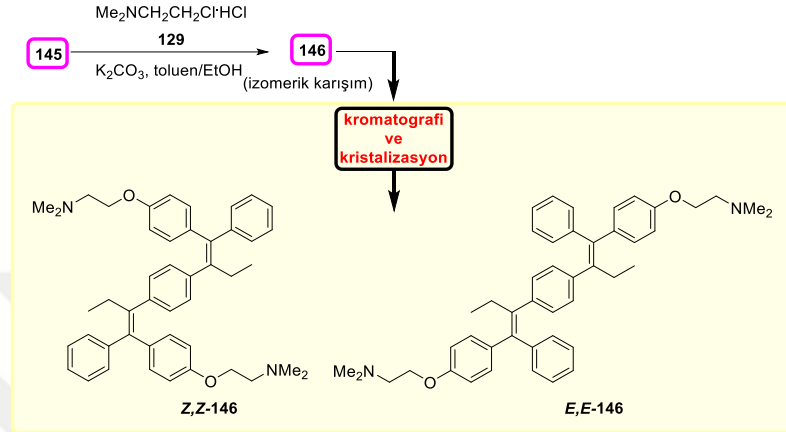


Şema 3.8. **Z,Z-139** ve **E,E-139**'in sentezi

Benzer sentez yöntemi ile tamoksifen molekülünün fenil halkası üzerinden bir başka dimerinin sentezi de gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk önce 1,4-dibrombenzen (**143**)'ün bis(pinakolato)dibor (B_2pin_2) ile reaksiyonundan bispinakolat esteri **144** elde edildi (Şema 3.9). Daha sonra 1,4-bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)benzen (**144**) ve vinilbromür **127** paladyum katalizli kenetlenme tepkimesine sunuldu ve fenolik dimer **145** elde edildi (Şema 3.9). Dimerik bileşik **145**'in 2-kloro-*N,N*-dimetiletilamin (**129**) ile alkilasyonu sonucu hedeflenen dimerik molekül **146** izomerik karışım halinde elde edildi. Kromatografik yöntemler ve kristalizasyon kullanılarak izomerler **Z,Z-146** ve **E,E-146** saflaştırıldı ve yapıları spektroskopik olarak karakterize edildi (Şema 3.10). Elde edilen dimerik tamoksifenlerin saflık derecesi HPLC ile (saflık derecesi >%95) belirlenmiştir.



Şema 3.9. Fenolik dimer (**145**)'in sentez şeması



Şema 3.10. *Z,Z*-146 ve *E,E*-146'nın sentezi

Antikanser aktivite çalışmaları

Hücre kültürü

Tamoksifen türevleri bileşiklerin hücre canlılığı üzerine olan etkilerini belirlemek üzere deneylerde östrojene duyarlı MCF-7 ve üçlü negatif MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları ve kontrol olarak tümörijenik olmayan MCF10A insan meme epitel hücre hattı kullanılmıştır. MCF-7 hücreleri %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI-1640 besiyerinde, MDA-MB-231 hücreleri %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 L-glutamin içeren DMEM besiyeri içerisinde ve son olarak MCF10A hücreleri ise %5 at serumu (horse serum), 0.5 mg/mL hidrokortizon, 100 ng/mL kolera toksin, 10 µg/mL insülin ve %1 penisilin streptomisin içeren DMEM-F12 besiyerinde %5 CO₂ içeren inkübatörlerde 37 °C'de kültüre edilmiştir.

Bileşiklerin hazırlanması

Tamoksifen türevi her bir bileşik belli miktarlarda tartılarak ve ana stoğu 20 mM olacak şekilde farklı hacimlerde DMSO ile çözülerek hazırlandı. Deneylerde kullanılacak bileşiklerin çözücüsü DMSO'nun hücelere uygulanması sırasında besiyeri içerisinde %1 DMSO geçmeyecek şekilde ara stoklar hazırlanarak hücelere uygulanmıştır. Deney aşamasına kadar tüm bileşikler -20 °C'de muhafaza edildi.

Hücre canlılık çalışmaları

MCF-7, MDA-MB-231, MCF10A hücreleri 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyusuna 2×10^3 hücre gelecek şekilde 4 tekrarlı olarak ekildi. Daha sonra hücreler tamoksifen ve tamoksifen aktif metaboliti olan 4-hidroksitamoksifenin (4-OHT), literatürdeki IC_{50} dozlarıyla (Radhi vd., 2023; Abu vd., 2014; Rohlenova vd., 2017; Dai vd., 2019; Etti vd., 2017) ve tamoksifen türevi bileşikler ise $1 \mu M$, $5 \mu M$, $10 \mu M$, $25 \mu M$, $50 \mu M$ ve $100 \mu M$ konsantrasyonda hücrelere 24 ve 48 saat boyunca muamele edildi. (Altharawi vd., 2020; Ebrahimi vd., 2013; Kocak vd., 2020; Breedveld vd., 2005). Literatürde var olan tamoksifen dozları pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı, Cell Viability Detection Kit-8 (Ecotech Biotechnology) kiti ile üretici firmanın protokolü takip edilerek yapıldı. Kısaca, 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra ilaçlı besiyeri uzaklaştırıldı ve hücreler %10 oranında CVDK-8 ajanı içeren besiyerinden her bir kuyuya $50 \mu L$ eklendi ve hücreler $37^\circ C$ 'de inkübatörde karanlıkta 3 saat inkübe edildi. Her 1 saatte Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) ile 450 nm 'de absorbans ölçümü yapılarak hücre canlılığı değerlendirildi (Barlak vd., 2020). Her bir molekül için IC_{50} değeri Probit aracı kullanılarak hesaplandı.

Hücre apoptoz çalışmaları (Kaspaz-8 kolorimetrik deney)

Etkin değere sahip moleküllerin MCF-7 için 48. saat IC_{50} dozları ile 48 saat muamele edilen hücrelerdeki apoptotik aktivite kolorimetrik Kaspaz-8 aktivite test kiti (Caspase-8 Colorimetric Assay Kit (BioVision)) kullanılarak üretici firmanın protokolü takip edilerek ölçüldü. Kısaca; hücreler 6 kuyucuklu plakalara 10×10^4 hücre olacak şekilde ekildi ve 48 saat etkin bileşikler ile muamele edildi. Muamele sonrasında kit içerisindeki lizis tamponu ile hücreler parçalandı. Hücre lizatları 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve $37^\circ C$ 'de 4 saat Kaspaz-8 substratı ile inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklardaki absorbans 405 nm dalga boyunda Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek Instruments, Winooski, VT, USA) cihazında ölçüldü. Kaspaz-8 aktivite seviyesindeki artış, kontrol grubuyla karşılaştırılarak belirlendi (Moradhaseli vd., 2013).

Total RNA izolasyonu

MCF-7 hücreleri, 6 kuyucukları platelerin her bir kuyusuna 10×10^4 hücre gelecek şekilde ekildi. Daha sonra hücreler, test bileşikleri, TMX ve 4-OHT ile 24 saat boyunca muamele edildi. İnkübasyon süresi sonunda her kuyudaki besiyeri uzaklaştırıldı ve hücreler 1 x PBS ile yıkandı. Hücreler $750 \mu L$ tripsin ile muamele edildi. Sonrasında hücreler liziz aşamasından önce toplanarak 1200 rpm 'de 5 dk santrifüj edildi. Hücrelere $400 \mu l$ EcuPure Lizis/Bağlama Tamponu eklendi. Pipetaj yapılarak hücreler iyice karıştırıldı ve ardından, bir

sonraki adıma geçmeden önce tüm pelet tamamen çözülene kadar 10 saniye vortekslandı. Lizata 400 µl absolute (%96-100) etanol eklendi ve 10 saniye vorteksleyerek iyice karıştırıldı. Daha sonra lizattan elde edilen 700 µl numune EcoPure Kolonlarına aktarıldı ve oda sıcaklığında 30 saniye maksimum hızda santrifüj edildi. Lizat hacmine bağlı olarak, gerektiği kadar bu adım tekrarlandı. Santrifüj sonrasında kolon altında biriken sıvı uzaklaştırıldı ve EcoPure Kolonlarına 400 ml EcoPure Wash Buffer 1 eklendi ve oda sıcaklığında 30 saniye maksimum hızda santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında kolon altında biriken sıvı uzaklaştırıldı ve EcoPure Kolonlarına 500 ml EcoPure Wash Buffer 2 eklendi ve oda sıcaklığında 30 saniye maksimum hızda santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında kolon altında biriken sıvı uzaklaştırıldı ve 200 µl EcoPure Wash Buffer 2'yi EcoPure Column'a ekleyerek maksimum hızda 2 dakika süreyle kalan yıkama tamponu tamamen uzaklaştırıldı. EcoPure Kolonu temiz, RNaz içermeyen 1,5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. EcoPure Kolon zarının merkezine 50-100 µL EcoPure Elution Buffer eklendi ve kolon oda sıcaklığında 1-2 dakika inkübe edildi. Daha sonra maksimum hızda 30 sn santrifüj edildi. RNA konsantrasyonları ve saflıkları, Epoch 2 mikropilaka Spektrofotometresi (BioTek) ile ölçüldü.

cDNA sentezi ve kantitatif gen ekspresyon (Real Time PCR) analizi

MCF-7 hücreleri ekildikten sonra 24 saat boyunca tamoksifen, 4-OHT ve tamoksifen türevi bileşikler ile muamele edildikten sonra hücrelerden izole edilen RNA örneklerinin her birinden 1000 ng kullanılarak cDNA sentezi yapıldı. cDNA sentez işlemleri 'High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit'i (Thermo, ABD) ile üretici firmanın protokolü takip edilerek gerçekleştirildi (Xing vd., 2019). Gen ekspresyon analizleri gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) 5x HOT FIREPol® EvaGreen®qPCR SuperMix ile üretici firmanın protokolü takip edilerek Rotor-Gene qRT-PCR cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. GAPDH internal kontrol olarak kullanıldı ve deneyler iki tekrarlı olacak şekilde yapıldı. Rölatif kantitasyon analizi delta-delta-CT metodu kullanılarak yapıldı. qRT-PCR reaksiyonları (Tablo 5) gerçekleştirilirken kullanılan primer dizileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Primer Listesi ve Dizileri

1.	GEN	DİZİ
2.	<i>GREB1-F</i>	5'-CTGCGCCTTGTCTCCATTTC-3'
3.	<i>GREB1-R</i>	5'-AAGAAGAGCATTGTGGCCATTG-3'
4.	<i>PS2-F</i>	5'-CATCGACGTCCCTCCAGAAG-3'
5.	<i>PS2-R</i>	5'-CTTCTGGGACTAATCACCGTGC-3'
6.	<i>GAPDH-F</i>	5'-CCATCTTCCAGGAGCGAGATC-3'
7.	<i>GAPDH-R</i>	5'-GGCATTGCTGATGATCTTGAGG-3'

Tablo 5. qRT-PCR Reaksiyon Koşulları Tablosu

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
95	12 dk	1 döngü
95	15 sn	
65	20 sn	40 döngü
72	20 sn	

İstatistiksel Analiz

Deneyle 4 tekrarlı olarak yapılmış ve değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Veriler istatistiksel olarak Student's t-test aracılığıyla analiz edilmiş ve $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir. Verilerin görselleştirilmesi için GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) programı kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Genel Deneysel Yöntemler

Tüm reaktifler, aksi belirtilmedikçe ticari tedarikçilerden temin edildi ve daha fazla saflaştırılmadan kullanıldı. ¹H NMR ve ¹³C NMR deneyleri 400 MHz Varian ve 400 MHz Bruker Avance II aletlerinde çözücü olarak CDCl₃ kullanılarak oda sıcaklığında iç standart olarak tetrametilsilan ile yapıldı ve *J* sabitleri hertz olarak verildi, s = tekli, d = ikili, t = üçlü, q = dördü, h = yedili ve m = çoklu olarak tanımlanır. Tüm bileşiklerin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumları (HRMS), bir quadropole time-offlight spektrometri cihazında alındı. Sonuç bileşiklerinin HPLC saflık tayini 280 nm'de Shimadzu Prominence LC cihazında asetonitril (ACN):0.2% formik acid (FA) (0:100 → 40:60, v/v) ile akış hızı 0.3 mL/dk olacak şekilde Supelco Ascentis Express RP-Amide (100 × 2.1 mm, 2.7 µm) kolon ile yapıldı. Sonuç ürünlerinin saflık derecesi >%95 olarak belirlendi. Aksi belirtilmedikçe kolon kromatografisi, silikajel (gözenek boyutu, 60 Å; 70-230 ağ gözü, Sigma) kullanılarak yapıldı. Aksi belirtilmedikçe tüm reaksiyonlar, bir argon veya nitrojen atmosferi altında gerçekleştirildi. Çözücüler, kullanımdan önce belirlenmiş prosedürlere göre kurutuldu. Reaksiyonlar, ince tabaka kromatografisi (TLC) veya ¹H NMR spektroskopisi ile izlendi.

5-Bromoindol (**115**), isatin (**118**), propanal (**123**), 4-metoksibenzofenon (**124**), 2-kloro-*N,N*-dimetiletülamın (**129**) ve *Z*-tamoksifen (**Z-19**) ticari olarak elde edildi. 0 °C sıcaklığında gerçekleştirilen tepkimelerde ilgili sıcaklığa inmek için buz banyosu kullanıldı. NMR numuneleri 0.5 mL döteryumlu çözücü ve ¹H-NMR için 10 mg, ¹³C-NMR için 25 mg organik madde kullanılarak hazırlandı. Kolon kromatografisi ile yapılan saflaştırma işlemlerinde dolgu maddesi olarak silikajel ve alüminyum oksit kullanıldı. Silikajel kolona bulamaç halinde, alüminyum oksit ise kuru vaziyette yüklendi. Bazik alüminyum oksit kullanıldığı durumlarda dolgu maddesi kolona yüklenmeden önce su (%2) ile aktive edildi. HRMS numuneleri 1 mg organik maddenin 2 mL uygun bir organik çözücüde, HPLC numuneleri 1 mg organik maddenin 1 mL organik çözücüde çözülmesiyle hazırlandı.

Bu tez çalışmasının hücre kültürü çalışmaları Erzurum Teknik Üniversitesi, Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi (YÜTAM) laboratuvarlarında yapılmıştır. Antikanser özelliklerini test etmek üzere deneylerde kullanılan östrojene duyarlı MCF-7 ve üçlü negatif MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları ve kontrol olarak tümörjenik olmayan MCF10A insan meme epitel hücre hattı kullanılmıştır. MCF-7 hücreleri %10 fetal bovin serumu (FBS)

ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI-1640 besiyerinde, MDA-MB-231 hücreleri %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 L-Glutamin içeren DMEM besiyeri içerisinde ve son olarak MCF10A hücreleri ise %5 at serumu (horse serum), 0.5 mg/mL hidrokortizon, 100 ng/mL kolera toksin, 10µg/mL insülin ve %1 penisilin streptomisin içeren DMEM-F12 besiyerinde %5 CO₂ içeren inkübatörlerde 37°C’de kültüre edilmiştir. Bileşikler DMSO içerisinde çözülmüş, ana stok 20 mM olacak şekilde hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılmak üzere ana stoktan seyreltmeler yapılarak bileşikler hazır hale getirilmiş ve deney aşamasına kadar tüm bileşikler -20 °C’de muhafaza edilmiştir. Tüm hücre hatlarında tamoksifen IC₅₀ dozunu belirlemek için 1µM, 5µM, 10µM, 25µM, 50µM ve 100µM konsantrasyonları seçildi.

Hücre sayımı T25 flaklarda kültüre edilen hücrelerin %75-85 oranında konfluensiye ulaşması sonrasında hücreler tripsin ile kaldırıldı ve daha sonra santrifüj ile çöktürüldü. 3 mL taze besiyerinde hücreler çözüldü ve pipetaj yapılarak iyice homojen hale gelmesi sağlandı. Hücre sayımı için BioRad TC20™ Automated Cell Counter cihazı kullanıldı. Hücre sayım cihazının slaytlarına 10 µl hücre ile 10 µl tripan mavisini karıştırdıktan sonra 10 µl yüklendi ve cihazda sayım gerçekleştirildi. Hücre sayımından sonra 6 kuyucuklu platelerin her bir kuyucuğuna 2 mL besiyeri içerisinde 1.2×10^5 - 1.5×10^5 sayıda hücre ekimi yapılmıştır. 96 kuyucuklu platenin her bir kuyucuğuna 100 µl besiyeri içerisinde 3.000 hücre olacak şekilde hücre ekimi yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra hücreler deneylerde kullanılincaya kadar 37°C’de %5’lik CO₂ içeren inkübatör içerisinde büyütülmüştür.

Pinakol Esterlerinin Sentezi

5-Bromo-1-etil-1H-indol (116). 5-Bromo-1H-indol (**115**) (2.0 g, 1 mmol) DMSO (30 mL) içerisindeki çözeltisinin üzerine NaOH (0.5 g, 1.2 mmol) ilave edildi. Daha sonra reaksiyon oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldıktan sonra 0 °C’ye soğutularak üzerine etil bromür (0.91 mL, 1.2 mmol) damla damla 10 dakika boyunca ilave edildi ve oda sıcaklığına getirilerek 5 saat daha karıştırıldı. Reaksiyon karışımına H₂O ilave edildi ve etil asetat (2×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücüsü vakum altında uzaklaştırıldı. 5-Bromo-N-etil indol (**116**) (2.5 g, %95) sarı sıvı madde olarak elde edildi.

1-Etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)-1H-indol (117). 5-Bromo-1-etil-1H-indol (**116**) (0.6 g, 2.7 mmol), 4 mL dioksan içerisinde çözüldü ve çözelti degaze edildikten sonra üzerine Pd₂(dba)₃ (49.2 mg, 0.05 mmol), Xphos (51.2 mg, 0.01 mmol), KOAc (0.8 g, 8.1 mmol) ve bis(pinakolato)dibor (B₂pin₂) (819 mg, 3.2 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı kapalı tüp içerisinde 110 °C’de 20 saat karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına getirildikten sonra selitten EtOAc (40 mL) ile süzüldü. Daha sonra organik faz su (3×40 mL) ile yıkandı.

Birleştirilen organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve çözücü uzaklaştırıldı. Ham ürün EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) karışımıyla silika jel kolon üzerinden saflaştırıldı. 1-Etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)-1H-indol (**117**) (0.52 g, %72, erime noktası = 77-72 °C) sarı katı madde olarak elde edildi. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09 (s, =CH, 1H), 7.58 (d, J = 8.3 Hz, =CH, 1H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, =CH, 1H), 7.03 (d, J = 3.1 Hz, =CH, 1H), 6.43 (d, J = 3.1 Hz, =CH, 1H), 4.10 (q, J = 7.3 Hz, $-\text{CH}_2$, 2H), 1.37 (t, J = 7.3 Hz, $-\text{CH}_3$, 3H), 1.29 (s, $-\text{CH}_3$, 12H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 137.7, 129.0, 128.4, 127.5, 127.2, 108.7, 101.8, 83.4, 40.9, 24.9, 15.4.

1-Etilindolin-2,3-dion (119). İzatin (**118**)'in (2 g, 1 mmol) DMF (10 mL) içerisindeki çözeltisi üzerine K_2CO_3 (2.82 g, 1.5 mmol) ilave edildi. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 10 dakika karıştırıldıktan sonra üzerine etil bromür (1.48 g, 1.01 mL, 1 mmol) damla damla ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında 16 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımına buzlu su ilave edildi ve süzgeç kağıdından süzüldü. Ham ürün hekzan ile kristallendirildi. 1-Etilindolin-2,3-dion (**119**) (2.2 g, %97, erime noktası = 92-93 °C) kırmızı katı madde olarak elde edildi. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.63–7.59 (m, =CH, 2H), 7.13 (t, J = 7.5 Hz, =CH, 1H), 6.93 (d, J = 7.9 Hz, =CH, 1H), 3.81 (q, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_2$, 2H), 1.33 (t, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_3$, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 157.9, 150.7, 138.3, 125.4, 123.6, 117.6, 111.7, 110.0, 35.0, 12.5.

1-Etilindolin-2-on (120). 1-Etilindolin-2,3-dion (**119**) (1 g), 20 mL hidrazin hidrat içerisinde çözülerek 130 °C'de 18 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra etil asetat (2×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün hekzan ile kristallendirildi. 1-Etilindolin-2-on (**120**) (850 mg, %94, erime noktası = 97-98 °C) kirlili beyaz katı madde olarak elde edildi. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.34–7.24 (m, =CH, 2H), 7.05 (t, J = 7.5 Hz, =CH, 1H), 6.87 (d, J = 7.8 Hz, =CH, 1H), 3.80 (q, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_2$, 2H), 3.54 (s, $-\text{CH}_2$, 2H), 1.30 (t, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_3$, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 174.4, 144.1, 127.6, 124.6, 124.3, 121.9, 108.0, 35.5, 34.4, 12.5.

5-Bromo-1-etilindolin-2-on (121). 1-Etilindolin-2-on (**120**) (552 mg, 1 mmol), 10 mL asetonitril içerisinde çözüldü. Karışıma buz banyosunda, 10 mL asetonitril içerisinde çözülmüş NBS (477 mg, 1.03 mmol) ilave edildi ve aynı sıcaklıkta 3 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi ve ardından çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. Kalıntı soğuk asetonitril ile birkaç kez yıkandı. 5-Bromo-1-etilindolin-2-on (**121**) (540 mg, %86, erime noktası = 111-112 °C) beyaz katı madde olarak elde edildi. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.46–7.36 (m, =CH, 2H), 6.74 (d, J = 8.3 Hz, =CH, 1H), 3.85–3.68 (m, $-\text{CH}_2$, 2H),

3.53 (s, -CH₂, 2H), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.0, 143.3, 130.7, 127.6, 126.8, 114.7, 109.6, 35.8, 34.6, 12.5.

1-Etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)indolin-2-on (122). 5-Bromo-1-etilindolin-2-on (**121**) (300 mg, 1 mmol) bileşğinin 4 mL dioksan içerisindeki çözeltisi degaze edildikten sonra üzerine PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (33 mg, 0.05 mmol), KOAc (367 mg, 3 mmol) ve bis(pinakolato)dibor (B₂pin₂) (412 mg, 1.3 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı kapalı tüp içerisinde 110 °C’de 20 saat karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına getirildikten sonra selitten EtOAc (40 mL) ile süzöldü. Daha sonra etil asetat fazı su (3×40 mL) ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu, çözücüsü uzaklaştırıldı ve ham ürün EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) karışımıyla silika jel kolondan saflaştırıldı. 1-Etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)indolin-2-on (**122**) beyaz katı madde (0.275 g, %75, erime noktası = 121-122 °C) olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, -CH, 1H), 7.61 (s, -CH, 1H), 6.77 (d, *J* = 7.8 Hz, -CH, 1H), 3.70 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 2H), 3.42 (s, -CH₂, 2H), 1.26 (s, -CH₃, 12H), 1.18 (t, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.0, 147.0, 135.1, 130.5, 124.1, 107.6, 83.7, 35.5, 34.7, 24.8, 12.7.

1-Metoksi-4-(1-fenilbut-1-en-1-il)benzen (125). İki boyunlu bir balona Zn (6.16 g, 94.23 mmol) konuldu ve ortamın havası vakumla alındı. Daha sonra 12 mL THF ilave edildi ve karışım -78 °C’ye soğutuldu. Bu karışıma azot atmosferinde TiCl₄ (5.2 mL, 47.1 mmol) damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra 2 saat kaynatıldı. Karışıma piridin (0.19 mL, 23.6 mmol) ilave edildi ve 10 dakika karıştırıldı. Ardından 4-metoksibenzofenon (**124**) (5.0 g, 23.6 mmol) ve propiyonaldehit (**123**) (0.22 mL, 30.62 mmol)’in 5 mL THF içerisindeki çözeltisi balona damla damla ilave edildi. Tepkime karışımı 18 saat kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığına getirildi ve %10’luk K₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek tepkime durduruldu. Karışım süzgeç kağıdından süzöldükten sonra EtOAc ile (2×30 mL) ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (0.3:9.7; 700 mL) karışımı ile elüe edildi. (*E/Z*)-1-Metoksi-4-(1-fenilbut-1-en-1-il)benzen (**125**) (3.76 g, % 53) renksiz sıvı madde olarak izomer karışımı halinde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39–7.32 (m, =CH, 2H), 7.36–7.10 (m, =CH, 5H), 6.99–6.88 (m, =CH, 2H), 6.89–6.76 (m, =CH, 2H), 6.07–5.99 (m, =CH, 1H), 3.87 (s, -OCH₃, 1H), 3.82 (s, -CH₃, 1H), 2.28–2.06 (m, -CH₂, 2H), 1.03–0.89 (m, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 158.8, 158.5, 143.3, 140.8, 135.7, 132.8, 131.5, 131.1, 130.0, 129.9, 128.3, 128.1, 128.0, 127.3, 126.8, 126.7, 113.5, 55.2, 23.2, 14.5.

1-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)-4-metoksibenzen (126). (*E/Z*)-1-Metoksi-4-(1-fenilbut-1-en-1-il)benzen (**125**) (1 g, 4.20 mmol) bileşiği 30 mL CHCl₃ içerisinde çözüldü. Daha sonra üzerine 15 mL CHCl₃ içerisindeki Br₂ (0.23 mL, 4.53 mmol) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı 15 dakika karıştırıldıktan sonra çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. 1-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)-4-metoksibenzen (**126**) (1.1 g, %90), koyu sarı yağimsı madde olarak izomer karışımı halinde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29–7.06 (m, =CH, 6H), 7.04–6.97 (m, =CH, 1H), 6.80–6.73 (m, =CH, 2H), 3.71 (s, -OCH₃, 3H), 2.61–2.36 (m, -CH₂, 2H), 1.12 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 143.6, 141.4, 140.8, 139.6, 136.8, 135.7, 133.4, 130.6, 130.0, 129.2, 128.8, 128.4, 128.0, 127.2, 127.0, 113.8, 113.3, 56.2, 55.2, 32.5, 32.4, 14.1.

4-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (127). (*E/Z*)-1-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)-4-metoksibenzen (**126**) (1.0 g, 2.74 mmol) bileşiğinin 20 mL CH₂Cl₂ içerisindeki çözeltisine -78 °C'de, 5 mL CH₂Cl₂ içerisindeki BBr₃ (0.26 mL, 2.74 mmol) çözeltisi damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı aşamalı bir şekilde oda sıcaklığına getirildi ve 24 saat karıştırıldı. Karışıma damla damla 20 mL su ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Daha sonra diklorometan (3×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan ile saflaştırıldı. 4-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (**127**) (860 mg, %82) açık yeşil yağimsı madde olarak izomer karışımı halinde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.27–7.19 (m, =CH, 2H), 7.18–7.12 (m, =CH, 2H), 7.11–7.03 (m, =CH, 2H), 6.99–6.92 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 1H), 6.72–6.93 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 5.12 (s, -OH, 1H), 2.46 (dq, *J* = 16.9, 7.3 Hz, -CH₂, 2H), 1.09 (q, *J* = 7.1 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 154.7, 154.4, 143.6, 141.4, 141.2, 140.8, 140.7, 135.9, 133.6, 130.8, 130.2, 129.2, 128.8, 128.4, 128.0, 127.3, 127.1, 115.3, 114.9, 32.5, 32.4, 14.1.

Genel Prosedür A: Suzuki–Miyaura kenetlenme reaksiyonları

Boranik asit türevi (1 ekv.) ve vinil bromür türevi (1.1 ekv.), tolüen (40 mL), EtOH (6 mL) ve su (6 mL) içerisinde çözüldü. Karışıma Na₂CO₃ (10 ekv.) ilave edildikten sonra çözelti degaze edildi ve üzerine Pd(PPh₃)₄ (0.01 ekv.) ilave edildi. Karışım 100 °C'de 18 saat kaynatıldı ve oda sıcaklığına getirilerek üzerine sulu NaHCO₃ çözeltisi ilave edildi. Ham ürün diklorometan (3×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan ile saflaştırıldı.

4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (128). 4-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (**127**) (1.48 g, 1 mmol) ve 1-etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)-

1*H*-indol (**117**) (1.10 g, 1.2 mmol) kullanılarak genel prosedür A'ya göre hazırlandı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan ile saflaştırıldı. (*E/Z*)-4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (**128**) (600 mg, %62) sarı yağimsı madde olarak izomer karışımı halinde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37–7.35 (m, =CH, 1H), 7.26–7.24 (m, =CH, 1H), 7.19–7.18 (m, =CH, 1H), 7.06–7.04 (m, =CH, 3.5H), 6.96–6.71 (m, =CH, 3.5H), 6.69–6.66 (m, =CH, 2H), 6.43–6.10 (m, =CH, 2H), 4.98 (m, -OH, 0.5H), 4.58 (m, -OH, 0.5H), 4.07–3.97 (m, -CH₂, 2H), 2.50–2.39 (m, -CH₂, 2H), 1.38–1.33 (m, -CH₃, 3H), 0.88–0.83 (m, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 154.3, 153.3, 144.7, 144.2, 143.1, 142.8, 134.7, 132.3, 131.2, 131.1, 129.8, 128.3, 127.5, 127.1, 124.5, 121.8, 121.7, 115.2, 114.6, 108.9, 108.8, 101.2, 101.1, 61.3, 41.0, 29.8, 15.5, 14.1. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₂₆H₂₆NO için hesaplanan: 368.2009; bulunan: 368.1992.

2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (113). Fenolik bileşik **128** (400 mg, 1 mmol), 20 mL tolüen ve 20 mL EtOH içerisinde çözülerek üzerine K₂CO₃ (738 mg, 8 mmol) ve 2-dimetilaminoetil klorür hidroklorür (**129**) (0.384 mg, 4 mmol) ilave edildi. Karışım 100 °C'deki yağ banyosunda 24 saat kaynatıldı. Reaksiyon oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine doygun NH₄Cl çözeltisi ilave edilerek 40 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına 20 mL etil asetat ilave edildi, organik faz tuz çözeltisi ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (1:9) ile saflaştırıldı. 2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (**113**) (250 mg, %95) izomerik karışım halinde elde edildi.

(*Z*)-2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (*Z*-113). (*Z*)-2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (*Z*-113) etil asetat/hekzan/trietilamin (2:8:0.5) karışımı üzerinden saflaştırılarak (98 mg, %42) açık sarı yağimsı sıvı olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38 (s, =CH, 1H), 7.28–7.21 (m, =CH, 2H), 7.21–7.12 (m, =CH, 3H), 7.05–6.93 (m, =CH, 2H), 6.90–6.79 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 6.74–6.67 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 6.46–6.38 (m, =CH, 1H), 6.30 (d, *J* = 3.1 Hz, =CH, 1H), 4.01 (q, *J* = 7.4 Hz, -CH₂, 2H), 3.81 (t, *J* = 5.7 Hz, -OCH₂, 2H), 2.54 (t, *J* = 5.7 Hz, -NCH₂, 2H), 2.42 (q, *J* = 7.3 Hz, -CH₂, 2H), 2.19 (s, -NCH₃, 6H), 1.36 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 3H), 0.84 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.4, 144.6, 142.3, 137.2, 136.2, 134.5, 133.3, 132.0, 129.6, 128.4, 128.1, 126.7, 126.3, 124.4, 121.4, 113.4, 108.6, 101.1, 65.6, 58.3, 45.9, 40.9, 29.6, 15.4, 13.9. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₃₀H₃₅N₂O için hesaplanan: 439.2744; bulunan: 439.2743. HPLC saflığı: %99.0.

(E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (E-113). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) etil asetat/hekzan/trietilamin (2:8:0.5) karışımı üzerinden saflaştırılarak (0.125 g, %47, erime noktası = 97-98 °C) sarı katı olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 (s, =CH, 1H), 7.13–7.06 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.01–6.96 (m, =CH, 2H), 6.91–6.77 (m, =CH, 8H), 6.29 (d, *J* = 3.0 Hz, =CH, 1H), 4.04–3.96 (m, -CH₂, -OCH₂, 4H), 2.66 (t, *J* = 5.8 Hz, -NCH₂, 2H), 2.47 (q, *J* = 7.4 Hz, -CH₂, 2H), 2.28 (s, -CH₃, 6H), 1.36 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.4, 143.9, 142.9, 137.3, 136.8, 134.5, 133.2, 131.0, 130.7, 128.3, 127.3, 126.7, 125.2, 124.3, 121.5, 114.8, 108.5, 101.0, 65.8, 58.4, 45.9, 40.9, 29.6, 15.4, 13.9. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₃₀H₃₅N₂O için hesaplanan: 439.2744; bulunan: 439.2743. HPLC saflığı: %95.0.

1-Etil-5-(1-(4-hidroksifenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)indolin-2-on (130). 4-(2-Bromo-1-fenilbut-1-en-1-il)fenol (**127**) (1.31 g, 1.2 mmol) ve 1-Etil-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)indolin-2-on (**122**) (1.03 g, 1 mmol) kullanılarak genel prosedür A'ya göre sentezlenmiştir. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan ile yürütülerek saflaştırıldı. 1-Etil-5-(1-(4-hidroksifenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)indolin-2-on (**130**) (550 mg, %70) sarı yağimsı ürün olarak izomer karışımı halinde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26–7.24 (m, =CH, 1H), 7.18–7.14 (m, =CH, 2H), 7.02–7.00 (m, =CH, 1H), 6.94–6.92 (m, =CH, 3H), 6.82–6.81 (m, =CH, 2H), 6.77–6.75 (m, =CH, 1H), 6.67–6.64 (m, =CH, 1H), 6.46–6.44 (m, =CH, 1H), 6.10 (yayvan pik, -OH, 1H), 3.67–3.60 (m, -CH₂, 2H), 3.34 (s, -CH₂, 1H), 3.31 (s, -CH₂, 1H), 2.44–2.33 (m, -CH₂, 2H), 1.21–1.12 (m, -CH₃, 3H), 0.88–0.83 (m, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.5, 175.3, 155.0, 154.2, 132.0, 130.8, 130.6, 129.4, 128.1, 127.4, 126.5, 126.0, 125.9, 125.6, 124.4, 115.1, 114.5, 107.8, 107.7, 35.9, 34.9, 28.9, 24.8, 13.7, 12.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₂₆H₂₆NO₂ için hesaplanan: 384.1958; bulunan: 384.1941.

5-(1-(4-(2-(Dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (114). Fenolik bileşik **130** (400 mg, 1 mmol), 20 mL tolüen ve 20 mL EtOH içerisinde çözülerek üzerine K₂CO₃ (738 mg, 8 mmol) ve 2-dimetilaminoetil klorür hidroklorür (**129**) (384 mg, 4 mmol) ilave edildi. Karışım 100 °C'deki yağ banyosunda 24 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine doygun NH₄Cl çözeltisi ilave edilerek 40 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına 20 mL etil asetat ilave edildi, organik faz tuz çözeltisi ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan

(1:9) karışımı ile yürütülerek saflaştırıldı. 5-(1-(4-(2-(Dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (**114**) (278 mg, %93) izomerik karışım halinde elde edildi. Daha sonra izomer karışımı silik jel ince tabaka kromatografisi ile etil asetat/hekzan/aseton (2:8:0.5) karışımı üzerinden saflaştırıldı. İnce tabakada ilk yürüyen madde olarak **Z-114** daha geriden yürüyen madde olarak **E-114** elde edildi.

(Z)-5-(1-(4-(2-(Dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (Z-114). (Z)-5-(1-(4-(2-(Dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (**Z-114**) 32 mg, %39, açık sarı yağimsı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36–7.28 (m, =CH, 2H), 7.21–7.10 (m, =CH, 3H), 7.04–6.96 (m, =CH, 2H), 6.80–6.73 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 6.65–6.61 (m, =CH, 1H), 6.61–6.55 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 3.86 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 2H), 3.64 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 2H), 3.32 (s, -CH₂, 2H), 2.57 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 2H), 2.36 (q, *J* = 7.4 Hz, -CH₂, 2H), 2.21 (s, -CH₃, 6H), 1.17 (t, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H), 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 175.0, 157.0, 144.1, 142.7, 141.0, 138.5, 136.6, 135.8, 132.0, 129.6, 129.5, 128.3, 126.7, 126.0, 124.5, 113.7, 107.8, 66.0, 58.5, 46.1, 36.1, 35.0, 29.2, 13.9, 12.9. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ C₃₀H₃₅N₂O₂ için hesaplanan: 455.2693; bulunan: 455.2675. HPLC saflığı: %95.6.

(E)-5-(1-(4-(2-(dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (E-114). (E)-5-(1-(4-(2-(dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etilindolin-2-on (**E-114**) 41 mg, %37, açık sarı yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.17–7.08 (m, =CH, 2H), 7.06–6.92 (m, =CH, 5H), 6.91–6.81 (m, =CH, 4H), 6.63–6.56 (m, =CH, 1H), 4.01 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 2H), 3.62 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 2H), 3.30 (s, -CH₂, 2H), 2.67 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 2H), 2.41 (dd, *J* = 14.9, 7.4 Hz, -CH₂, 2H), 2.27 (s, -CH₃, 6H), 1.15 (t, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 3H), 0.87 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.9, 157.8, 143.7, 142.6, 141.5, 138.6, 136.6, 136.3, 131.0, 130.7, 129.5, 127.6, 126.0, 125.8, 124.4, 114.4, 107.7, 66.1, 58.5, 46.2, 36.1, 35.0, 29.4, 13.9, 12.9. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ C₃₀H₃₅N₂O₂ için hesaplanan: 455.2693; bulunan: 455.2701. HPLC saflığı: %95.8.

Genel Prosedür B: Bis(indolil)metanlar Z,Z-132a-g'nin hazırlanması

(Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (2 mmol) ve benzaldehit türevleri (**131a-g**) (1 mmol) 1 mL HFIP içerisinde çözülerek oda sıcaklığında 5 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımının çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün sırasıyla EtOAc/hekzan (2:98, 0.5 L) ve EtOH/DCM (5:95, 0.5 L) karışımıyla silika jel kolondan yürütülerek saflaştırıldı.

2,2'-((((1Z,1'Z)-((Fenilmetilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132a). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (72 mg, 1.64 mmol) ve benzaldehit (**131a**) (10.2 mg, 0.82 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132a** (50 mg, %86) kirli beyaz yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.26–7.09 (m, =CH, 17H), 6.97–6.90 (m, =CH, 2H), 6.74–6.69 (m, =CH, 2H), 6.68–6.61 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.51 (s, =CH, 2H), 6.45–6.38 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.67 (s, -CH, 1H), 3.95 – 3.81 (m, -CH₂, 8H), 2.66 (t, *J* = 5.6 Hz, -CH₂, 4H), 2.39–2.11 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.28 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H), 0.71 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.1, 144.7, 144.4, 142.5, 136.8, 136.3, 135.2, 132.4, 131.9, 130.9, 129.6, 128.8, 128.0, 127.4, 126.2, 125.8, 124.6, 120.5, 118.3, 114.0, 113.3, 108.4, 65.2, 57.9, 45.4, 40.7, 40.5, 29.6, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M]⁺ C₆₇H₇₂N₄O₂ için hesaplanan: 964.5650; bulunan: 964.5652. HPLC saflığı: %95.6.

2,2'-((((1Z,1'Z)-((4-Florofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132b). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (77 mg, 1.75 mmol) ve 4-florobenzaldehit (**131b**) (10.9 mg, 0.87 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132b** (51 g, %85; erime noktası = 129-130 °C) açık pembe katı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.23 (t, *J* = 7.3 Hz, =CH, 4H), 7.18–7.05 (m, =CH, 8H), 7.00–6.93 (m, =CH, 2H), 6.87–6.73 (m, =CH, 6H), 6.68–6.59 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.48 (s, =CH, 2H), 6.45–6.38 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.62 (s, -CH, 1H), 3.92 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 4H), 3.85 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.60 (t, *J* = 5.7 Hz, -CH₂, 4H), 2.33–2.17 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.29 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H), 0.73 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 159.9, 156.3, 144.4, 142.3, 140.4, 137.0, 136.2, 135.2, 132.6, 131.8, 130.0, 129.6, 128.0, 127.2, 126.2, 124.4, 120.5, 118.1, 114.7, 114.5, 113.2, 108.5, 65.4, 58.2, 45.7, 40.8, 39.7, 29.7, 29.6, 15.5, 13.6. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂FN₄O₂ için hesaplanan: 983.5634; bulunan: 983.5611. HPLC saflığı: %96.0.

2,2'-((((1Z,1'Z)-((4-Klorofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132c). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (74 mg, 1.68 mmol) ve 4-klorobenzaldehit (**131c**) (11.8 mg, 0.84 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132c** (47 mg, %87; erime noktası = 135-136 °C) açık pembe katı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.24 (t, *J* = 7.3 Hz, =CH, 4H), 7.20–7.03 (m, =CH, 8H), 7.00–6.94 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.80–6.74 (m,

AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 6.68–6.61 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.49 (s, =CH, 2H), 6.46–6.40 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.62 (s, -CH, 1H), 3.92 (q, $J = 7.2$ Hz, -CH₂, 4H), 3.85 (t, $J = 5.5$ Hz, -CH₂, 4H), 2.62 (t, $J = 5.5$ Hz, -CH₂, 4H), 2.30–2.19 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, -CH₃, 6H), 0.73 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 144.4, 143.3, 142.3, 137.1, 136.2, 135.2, 132.6, 131.8, 131.3, 130.1, 129.5, 128.1, 128.0, 127.2, 126.2 (2C), 124.5, 120.5, 117.7, 113.2, 108.5, 65.5, 58.2, 45.7, 40.8, 39.8, 29.7, 29.6, 15.5, 13.6. HRMS (ESI-TOF) m/z : [M + H]⁺ C₆₇H₇₂ClN₄O₂ için hesaplanan: 999.5338; bulunan: 999.5341. HPLC saflığı: %99.8.

2,2'-((((1Z,1'Z)-(((4-Bromofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132d). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (33 mg, 0.75 mmol) ve 4-bromobenzaldehit (**131d**) (7 mg, 0.37 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132d** (45 mg %90) açık pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30–7.20 (m, =CH, 6H), 7.28–7.08 (m, =CH, 6H), 7.20–7.08 (m, =CH, 4H), 7.00–6.93 (m, =CH, 2H), 6.80–6.73 (m, =CH, 2H), 6.68–6.61 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.50 (s, =CH, 2H), 6.47–6.40 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.60 (s, -CH, 1H), 3.98–3.84 (m, =CH, 8H), 2.63 (t, $J = 5.7$ Hz, -CH₂, 4H), 2.28–2.21 (m, -NCH₃, CH₂, 16H), 1.30 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H), 0.73 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 144.4, 143.9, 142.4, 137.1, 136.3, 135.2, 132.7, 131.1, 130.6, 129.6 (2C), 128.1, 127.3, 126.3 (2C), 124.5, 120.6, 119.5, 117.7, 113.3, 108.6, 65.4, 58.2, 45.7, 40.8, 40.0, 29.7, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z : [M + H]⁺ C₆₇H₇₂BrN₄O₂ için hesaplanan: 1043.4833; bulunan: 1043.4826. HPLC saflığı: %99.3.

2,2'-((((1Z,1'Z)-(((4-İyodofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132e). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (123 mg, 2.80 mmol) ve 4-iyodobenzaldehit (**131e**) (32.5 mg, 1.40 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132e** (42 mg, %87) açık pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.50–7.43 (m, =CH, 2H), 7.24 (t, $J = 7.3$ Hz, =CH, 4H), 7.20–7.09 (m, =CH, 6H), 7.05 (s, =CH, 2H), 7.00–6.89 (m, =CH, 4H), 6.80–6.71 (m, =CH, 2H), 6.68–6.62 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.50 (s, =CH, 2H), 6.47–6.39 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.59 (s, -CH, 1H), 4.01–3.79 (m, -CH₂, 8H), 2.63 (t, $J = 5.7$ Hz, -CH₂, 4H), 2.28–2.22 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.30 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H), 0.73 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 144.6, 144.4, 142.4, 137.1, 137.0, 136.3, 135.2, 132.6, 132.0, 131.0, 129.6, 128.0, 127.2, 126.7 (2C), 124.6, 120.5, 117.6, 113.3,

108.6, 91.1, 65.4, 58.2, 45.7, 40.8, 40.1, 29.7, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂N₄O₂ için hesaplanan: 1091.4694; bulunan: 1091.4707. HPLC saflığı: %97.9.

4-(Bis(5-((Z)-1-(4-(2-(dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etil-1H-indol-3-il)metil)benzaldehit (Z,Z-132f). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (37 mg, 0.8 mmol) ve tereftalaldehit (**131f**) (6 mg, 0.4 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132f** (30 mg, %75) pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.91 (s, -CHO, 1H), 7.71–7.63 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.37–7.30 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 7.23 (t, J = 7.4 Hz, =CH, 2H), 7.19–7.08 (m, =CH, 4H), 7.06 (s, =CH, 2H), 7.01–6.95 (m, =CH, 4H), 6.81–6.74 (m, =CH, 4H), 6.66–6.58 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.51 (s, =CH, 2H), 6.43–6.37 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.72 (s, -CH, 1H), 3.94 (q, J = 7.2 Hz, -CH₂, 4H), 3.84 (t, J = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.58 (t, J = 5.7 Hz, -CH₂, 4H), 2.32–2.16 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.30 (t, J = 7.2 Hz, -CH₃, 6H), 0.72 (t, J = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.8, 152.2, 144.8, 142.2, 137.1, 136.1, 135.2, 134.5, 132.8, 131.8, 129.7, 129.6, 129.3, 128.0, 127.1, 126.2, 124.6, 120.4, 117.1, 114.0, 113.3, 108.6, 65.6, 58.3, 45.8, 40.8, 40.7, 29.7, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M]⁺ C₆₈H₇₂N₄O₃ için hesaplanan: 992.5599; bulunan: 993.5598. HPLC saflığı: %98.8.

2,2'-((((1Z,1'Z)-(((4-Nitrofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-132g). (Z)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**Z-113**) (70 mg, 1.6 mmol) ve 4-nitrobenzaldehit (**131g**) (12 mg, 0.8 mmol) kullanılarak genel prosedür B'ye göre hazırlandı. **Z,Z-132g** (80 mg, %87) sarı yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (d, J = 8.7 Hz, =CH, 2H), 7.29–7.20 (m, =CH, 6H), 7.18–7.07 (m, =CH, 6H), 7.05–6.98 (m, =CH, 4H), 6.87–6.80 (m, =CH, 2H), 6.61 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.51 (s, =CH, 2H), 6.43–6.36 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 5.70 (s, -CH, 1H), 3.98–3.90 (m, -CH₂, 4H), 3.87–3.82 (m, -CH₂, 4H), 2.61 (t, J = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.31–2.18 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.31 (t, J = 7.2 Hz, -CH₃, 6H), 0.73 (t, J = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 152.6, 146.2, 144.2, 142.1, 137.3, 136.1, 135.2, 133.0, 132.0, 129.5, 129.3, 128.0, 127.0, 126.3, 126.2, 124.5, 123.4, 120.4, 116.6, 113.2, 108.7, 65.6, 58.2, 45.8, 40.8, 40.3, 29.7, 15.5, 13.6. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M]⁺ C₆₇H₇₁N₅O₄ için hesaplanan: 1009.5501; bulunan: 1009.5507. HPLC saflığı: %95.1.

Genel Prosedür C: Bis(indolil)metanlar E,E-133a-g'nin hazırlanması

(E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (2 mmol) ve benzaldehit türevleri (**131a-g**) (1 mmol) DCM/HFIP (v/v, 1:1)

içerisinde çözülerek oda sıcaklığında 5 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımının çözücüsü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün sırasıyla EtOAc/hekzan (2:98, 0.5 L) ve EtOH/DCM (5:95, 0.5 L) çözücü karışımıyla ile yürütülerek silika jel kolondan saflaştırıldı.

2,2'-((((1E,1'E)-((Fenilmetilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-133a). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (66 mg, 1.5 mmol) ve benzaldehit (**131a**) (8 mg, 0.75 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. **E,E-133a** (35 mg, %68) sarı yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.19–7.18 (m, =CH, 4H), 7.06–7.03 (m, =CH, 4H), 6.96–6.91 (m, =CH, 2H), 6.89–6.70 (m, =CH, 19H), 6.45 (s, =CH, 2H), 5.57 (s, -CH, 1H), 4.00 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 3.90 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 4H), 2.67 (t, *J* = 5.7 Hz, -CH₂, 4H), 2.36–2.24 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.27 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H), 0.74 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.3, 144.6, 144.0, 143.0, 137.0, 136.8, 135.2, 132.3, 130.9, 130.6, 128.7, 128.0, 127.4, 127.2, 126.1, 125.8, 125.1, 124.3, 120.7, 118.4, 114.0, 108.2, 65.8, 58.3, 45.8, 40.7, 40.2, 29.5, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ C₆₇H₇₃N₄O₂ için hesaplanan: 965.5728; bulunan: 965.5729. HPLC saflığı: %97.5.

2,2'-((((1E,1'E)-((4-Florofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-133b). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (72 mg, 1.64 mmol) ve 4-florobenzaldehit (**131b**) (10 mg, 0.82 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. **E,E-133b** (53 mg, %82) açık pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.13–6.98 (m, =CH, 8H), 6.97–6.92 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 6.90–6.68 (m, =CH, 18H), 6.42 (s, =CH, 2H), 5.53 (s, -CH, 1H), 4.01 (t, *J* = 5.6 Hz, -CH₂, 4H), 3.90 (q, *J* = 7.2 Hz, -CH₂, 4H), 2.70 (t, *J* = 5.5 Hz, -CH₂, 4H), 2.38–2.25 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.28 (t, *J* = 7.2 Hz, -CH₃, 6H), 0.76 (t, *J* = 7.3 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.2, 143.9, 142.9, 140.3, 137.1, 136.8, 135.2, 132.5, 130.8, 130.6, 130.0, 129.9, 127.2, 127.1, 126.1, 125.1, 124.2, 120.8, 118.2, 114.8, 114.6, 114.0, 108.3, 65.7, 58.2, 45.8, 40.7, 39.4, 29.7, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂FN₄O₂ için hesaplanan: 983.5634; bulunan: 983.5607. HPLC saflığı: %98.5.

2,2'-((((1E,1'E)-((4-Klorofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-133c). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (67 mg, 1.52 mmol) ve 4-klorobenzaldehit (**131c**) (10 mg, 0.76 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. **E,E-133c** (60 mg, %75) açık pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 7.18 (s, =CH, 2H), 7.13–7.08 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.07–7.02 (m, =CH, 6H), 6.99 (s, =CH, 2H), 6.98–6.95 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 6.87–6.82 (m, =CH, 6H), 6.81–6.77 (m, =CH, 6H), 6.75–6.71 (m, =CH, 2H), 6.41 (s, =CH, 2H), 5.51 (s, -CH, 1H), 4.00 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 3.91 (q, $J = 7.2$ Hz, -CH₂, 4H), 2.66 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 2.37–2.23 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.28 (t, $J = 7.2$ Hz, -CH₃, 6H), 0.77 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.3, 143.9, 143.2, 142.8, 137.2, 136.7, 135.2, 132.5, 130.8, 130.6, 130.0, 128.1, 127.1, 126.1, 125.1, 124.2, 120.8, 117.8 (2C), 114.0, 108.3, 65.9, 58.3, 45.9, 40.7, 39.5, 29.7, 29.5, 15.4, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂ClN₄O₂ için hesaplanan: 999.5338; bulunan: 999.5332. HPLC saflığı: %98.0.

2,2'-((((1E,1'E)-((4-Bromofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-133d). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (48 mg, 1.1 mmol) ve 4-bromobenzaldehit (**131d**) (10 mg, 0.54 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. **E,E-133d** (27 mg, %60) sarı yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.27–7.22 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.07–7.02 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.01–6.97 (m, =CH, 4H), 6.95 (s, =CH, 2H), 6.87–6.82 (m, =CH, 6H), 6.81–6.76 (m, =CH, 6H), 6.75–6.71 (m, =CH, 4H), 6.41 (s, =CH, 2H), 5.49 (s, -CH, 1H), 4.01 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 3.91 (q, $J = 7.2$ Hz, -CH₂, 4H), 2.70 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 2.40–2.26 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.28 (t, $J = 7.2$ Hz, -CH₃, 6H), 0.77 (t, $J = 7.4$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.2, 143.9, 143.7, 142.8, 137.2, 136.8, 135.2, 132.5, 131.1, 130.8, 130.6, 130.4, 127.1, 126.2, 125.1, 124.1, 120.8, 119.5, 117.8, 117.7, 114.0, 108.4, 65.6, 58.1, 45.6, 40.7, 39.6, 29.7, 15.4, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂BrN₄O₂ için hesaplanan: 1043.4833; bulunan: 1043.4824. HPLC saflığı: %98.1.

2,2'-((((1E,1'E)-((4-İyodofenil)metilen)bis(1-etil-1H-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-133e). (E)-2-(4-(2-(1-Etil-1H-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-N,N-dimetiletan-1-amin (**E-113**) (59 mg, 1.34 mmol) ve 4-iyodobenzaldehit (**131e**) (15.6 mg, 0.67 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. **E,E-133e** (72 mg, %75) krem rengi yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR spektrumundan bis(indolil)metan **E,E-133e**'nin oluşumu sırasında **Z,Z-132e** bileşiğine izomerleşmenin olduğu belirlendi. Bileşiğin ¹H NMR spektrumundan **E,E-133e**'nin **Z,Z-132e**'ye oranı 2:1 olarak bulundu. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49–7.42 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.08–7.02 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.01–6.96 (m, =CH, 4H), 6.95 (s, =CH, 2H), 6.90–6.83 (m, =CH, 6H), 6.82–6.79 (m, =CH, 6H), 6.76–6.72 (m, =CH, 4H), 6.42 (s, =CH, 2H), 5.48 (s, -CH, 1H), 4.01 (t, $J = 5.7$ Hz, -CH₂, 4H),

3.96–3.82 (m, -CH₂, 4H), 2.69 (t, $J = 5.7$ Hz, -CH₂, 4H), 2.37–2.26 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.28 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H), 0.77 (t, $J = 7.4$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 153.3, 144.4, 143.9, 142.8, 142.2, 137.1, 136.7, 135.1, 132.5, 130.8, 130.6, 129.6, 128.0, 127.1, 126.1, 125.1, 120.8, 117.7, 114.0, 108.4, 77.5, 66.7, 58.3, 45.8, 40.8, 15.5, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂N₄O₂ için hesaplanan: 1091.4694; bulunan: 1091.4696. HPLC saflığı: %95.9.

4-(Bis(5-((*E*)-1-(4-(2-(dimetilamino)etoksi)fenil)-1-fenilbut-1-en-2-il)-1-etil-1*H*-indol-3-il)metil)benzaldehit (*E,E*-132*f*). (*E*)-2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (***E*-113**) (42 mg, 0.95 mmol) ve tereftalaldehit (**131*f***) (6.4 mg, 0.47 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. ***E,E*-132*f*** (23 mg, %75) açık pembe yağimsı ürün olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.92 (s, -CHO, 1H), 7.68–7.63 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı =CH, 2H), 7.33 – 7.26 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 7.06 – 7.01 (m, =CH, 4H), 7.00 – 6.96 (m, =CH, 4H), 6.85 – 6.76 (m, =CH, 12H), 6.75 – 6.70 (m, =CH, 4H), 6.44 (s, =CH, 2H), 5.61 (s, -CH, 1H), 4.00 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 3.92 (q, $J = 7.1$ Hz, -CH₂, 4H), 2.68 (t, $J = 5.7$ Hz, -CH₂, 4H), 2.40 – 2.23 (m, -NCH₃, -CH₂, 16H), 1.29 (t, $J = 7.2$ Hz, -CH₃, 6H), 0.75 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 192.2, 157.3, 152.2, 143.9, 142.8, 137.2, 136.6, 135.2, 132.7, 130.8, 130.6, 129.8, 129.2, 126.2, 125.1, 124.7, 120.6, 117.2, 114.0, 65.8, 58.3, 45.8, 40.8, 29.5, 15.4, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₈H₇₂N₄O₃ için hesaplanan: 993.5677; bulunan: 993.5667. HPLC saflığı: %99.1.

2,2'-((((*1E,1'E*)-(((4-Nitrofenil)metilen)bis(1-etil-1*H*-indol-3,5-diil))bis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(*N,N*-dimetiletan-1-amin) (*E,E*-133*g*). (*E*)-2-(4-(2-(1-Etil-1*H*-indol-5-il)-1-fenilbut-1-en-1-il)fenoksi)-*N,N*-dimetiletan-1-amin (***E*-113**) (71 mg, 1.60 mmol) ve 4-nitrobenzaldehit (**131*g***) (12 mg, 0.8 mmol) kullanılarak genel prosedür C'ye göre hazırlandı. ***E,E*-133*g*** (82 mg, %90) sarı yağimsı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, $J = 8.5$ Hz, =CH, 2H), 7.27–7.13 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.07–6.97 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.93 (s, =CH, 2H), 6.89–6.84 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 6.83–6.76 (m, =CH, 12H), 6.74–6.68 (m, =CH, 4H), 6.44 (s, =CH, 2H), 5.60 (s, -CH, 1H), 3.99 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 3.93 (q, $J = 7.2$ Hz, -CH₂, 4H), 2.66 (t, $J = 5.8$ Hz, -CH₂, 4H), 2.33 (q, $J = 7.3$ Hz, -CH₂, 4H), 2.27 (s, -NCH₃, 12H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, -CH₃, 6H), 0.77 (t, $J = 7.3$ Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.4, 152.6, 146.1, 143.8, 142.6, 137.4, 136.6, 135.2, 133.0, 130.8, 130.6, 129.2, 127.1, 126.9, 126.2, 125.1, 124.1, 123.4, 120.7, 116.7, 114.0, 108.6, 65.8, 58.3, 45.9, 40.8, 40.1,

29.5, 15.4, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + H]⁺ C₆₇H₇₂N₅O₄ için hesaplanan: 1010.5579; bulunan: 1010.5573. HPLC saflığı: 97.3%.

Dimerik tamoksifenlerin hazırlanması

2-(4-Bromofenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan (135). 1-Bromo-4-iyodobenzen (**134**) (2 g, 1 mmol), CsF (3.22 g, 3.03 mmol) ve bis(pinakolato)dibor (3.60 g, 2 mmol) (B₂Pin₂)'nin 50 mL susuz DMSO içerisindeki çözeltisi degaze edildikten sonra üzerine piridin (0.5 mL, 0.05 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 110 °C'de 18 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildi. Karışıma 1 N HCl çözeltisi ve 100 mL eter ilave edilerek organik faz ayrıldı, sulu faz eter ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) karışımıyla flash kolondan yürütülerek saflaştırıldı. 2-(4-Bromofenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan (**135**) (620 mg, %85) sarı sıvı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.58 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 7.42 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 2H), 1.25 (s, -CH₃, 12H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 136.3, 131.0, 126.2, 84.0, 25.0.

4,4'-Dibromo-1,1'-bifenil (141). 1,1'-Bifenil (**140**) (1 g, 1 mmol) 8 mL asetik asit içerisinde çözüldü. Daha sonra üzerine Br₂ (4.77 mL, 1 mmol) damla damla ilave edilerek oda sıcaklığında 18 saat karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımı etil asetat (3×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (1:9) karışımı ile yürütülerek saflaştırıldı. 4,4'-Dibromo-1,1'-bifenil (**141**) (1.7 g, %90; erime noktası = 158-159 °C) beyaz katı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60–7.57 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.44–7.42 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 138.9, 132.0, 128.5, 121.9.

4,4'-Bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)-1,1'-bifenil (142). 4,4'-Dibromo-1,1'-bifenil (**141**) (2.0 g, 1 mmol) 4 mL dioksan içerisinde çözüldü ve çözelti degaze edildikten sonra üzerine PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (38 mg, 0.05 mmol), KOAc (7.5 g, 3 mmol) ve bis(pinakolato)dibor (B₂pin₂) (7.3 g, 1.3 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı kapalı tüp içerisinde 110 °C'de 20 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra EtOAc (3×40 mL) ekstrakte edildi ve su ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) karışımıyla silika jel kolondan yürütülerek saflaştırıldı. 4,4'-Bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)-1,1'-bifenil (**142**) (1.8 g, %85; erime noktası = 244-245 °C) beyaz katı madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.91–7.89 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.66–7.64

(m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 1.28 (s, -CH₃, 24H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 143.6, 135.2, 126.5, 83.8, 24.8.

4,4'-([1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))difenol (138). Boronik ester türevi **142** (0.835 mg, 1 mmol) ve vinil bromür türevi **127** (1.37 g, 2.2 mmol), 50 mL tolüen, EtOH (8 mL) ve su (8 mL) içerisinde çözüldü. Daha sonra üzerine Na₂CO₃ (4.60 g, 10 mmol) ilave edildi. Çözelti degaze edildikten sonra üzerine Pd(PPh₃)₄ (0.25 mg, 0.01 mmol) ilave edildi ve 100 °C'de 18 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine sulu sodyum bikarbonat çözeltisi ilave edildi. Daha sonra diklorometan (3×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) ile yürütülerek saflaştırıldı. **4,4'-([1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))difenol (138)** (920 mg, %73) sarı katı madde olarak izomerik karışım halde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.50–7.35 (m, =CH, 10H), 7.34–7.25 (m, =CH, 2H), 7.23–7.12 (m, =CH, 4H), 7.09–6.98 (m, =CH, 2H), 6.98–6.90 (m, =CH, 2H), 6.87–6.77 (m, =CH, 4H), 6.55–6.49 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 4.98 (s, -OH, 1H), 4.80 (s, -OH, 1H), 4.73 (s, -OH, 1H), 2.68–2.37 (m, -CH₂, 4H), 1.04–0.89 (m, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 154.3, 153.5, 143.8, 143.3, 141.5, 141.2, 140.9, 138.4, 138.3, 138.0, 136.2, 135.7, 132.1, 130.9, 130.8, 130.1, 129.5, 128.1, 127.4, 126.6, 126.1, 126.0, 125.7, 115.0, 114.4, 28.9, 24.8, 13.7. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M]⁺ C₄₄H₃₈O₂ için hesaplanan: 598.2866; bulunan: 598.2854.

2,2'-(((1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (139). Fenolik bileşik **138** (400 mg, 1 mmol), 20 mL tolüen ve 20 mL EtOH içerisinde çözümlenerek üzerine K₂CO₃ (738 mg, 8 mmol) ve 2-dimetilaminoetil klorür hidroklorür (**129**) (384 mg, 4 mmol) ilave edildi. Karışım 100 °C'deki yağ banyosunda 24 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine doygun NH₄Cl çözeltisi ilave edilerek 40 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına 20 mL etil asetat ilave edildi, organik faz tuz çözeltisi ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (1:9) ile yürütüldü. **2,2'-(((1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (139)** (475 mg, %95) izomerik karışım halinde elde edildi. Daha sonra izomerler hekzandan fraksiyonlu kristalizasyon ile ayrıldı. Kristalizasyonda sırasıyla **Z,Z-139** ve **E,E-139** izomerleri saf olarak elde edildi.

1. Fraksiyon: 2,2'-((((1*E*,1'*E*)-[1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(*N,N*-dimetiletan-1-amin) (***E,E*-139**): 41 mg, %37, erime noktası = 136-137 °C, beyaz katı madde.

2. Fraksiyon: 2,2'-((((1*Z*,1'*Z*)-[1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(*N,N*-dimetiletan-1-amin) (***Z,Z*-139**): 83 mg, %42, erime noktası = 132-133 °C, beyaz katı madde.

2,2'-((((1*E*,1'*E*)-[1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(*N,N*-dimetiletan-1-amin) (*E,E*-139**). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.46–7.34 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.24–7.12 (m, =CH, 8H), 7.08–6.98 (m, =CH, 4H), 6.97–6.88 (m, =CH, 10H), 4.12 (t, *J* = 5.7 Hz, -CH₂, 4H), 2.80 (t, *J* = 5.7 Hz, -CH₂, 4H), 2.55 (q, *J* = 7.4 Hz, -CH₂, 4H), 2.39 (s, -NCH₃, 12H), 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.5, 143.4, 141.4, 141.2, 138.5, 138.0, 136.2, 130.9, 130.6, 130.1, 127.4, 126.0, 125.7, 114.1, 65.9, 58.3, 45.9, 29.0, 13.7. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M]⁺ C₅₂H₅₆N₂O₂ için hesaplanan: 740.4336; bulunan: 740.4328. HPLC saflığı: %100.**

2,2'-((((1*Z*,1'*Z*)-[1,1'-Bifenil]-4,4'-diilbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(*N,N*-dimetiletan-1-amin) (*Z,Z*-139**). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.47–7.41 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.37 (t, *J* = 7.3 Hz, =CH, 4H), 7.33–7.23 (m, =CH, 8H), 7.22–7.15 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 2H), 6.86–6.80 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.63–6.57 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 3.97 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.68 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.50 (q, *J* = 7.4 Hz, -CH₂, 4H), 2.32 (s, -NCH₃, 12H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.9, 144.1, 141.5, 141.0, 138.5, 138.2, 135.8, 132.1, 130.3, 129.7, 128.3, 126.7, 126.3, 113.6, 77.5, 58.3, 45.9, 29.1, 13.9. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M]⁺ C₅₂H₅₆N₂O₂ için hesaplanan: 740.4336; bulunan: 740.4335. HPLC saflığı: %96.5.**

1,4-bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)benzen (144). **1,4-dibrombenzen (143)** (2.0 g, 1 mmol) 4 mL dioksan içerisinde çözüldü ve çözelti degaze edildikten sonra üzerine PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂ (38 mg, 0.05 mmol), KOAc (7.5 g, 3 mmol) ve bis(pinakolato)dibor (B₂pin₂) (7.3 g, 1.3 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı kapalı tüp içerisinde 110 °C'de 20 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra EtOAc (3×40 mL) ekstrakte edildi ve su ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücüsü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) karışımıyla silika jel kolondan yürütülerek saflaştırıldı. **1,4-Bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-il)benzen (144)** (1.8 g, %87; erime noktası = 252-253 °C) beyaz katı madde olarak elde edildi. ¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (s, =CH, 4H), 1.27 (s, -CH₃, 24H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 133.9, 83.8, 25.0, 24.8.

4,4'-(1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))difenol (145). Boronik ester türevi **144** (0.835 mg, 1 mmol) ve vinil bromür türevi **127** (1.37 g, 2.2 mmol), 50 mL tolüen, EtOH (8 mL) ve su (8 mL) içerisinde çözüldü. Daha sonra üzerine Na₂CO₃ (4.60 g, 10 mmol) ilave edildi. Çözelti degaze edildikten sonra üzerine Pd(PPh₃)₄ (0.25 mg, 0.01 mmol) ilave edildi ve 100 °C'de 18 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine sulu sodyum bikarbonat çözeltisi ilave edildi. Daha sonra diklorometan (3×30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (2:98, 1 L) ile yürütülerek saflaştırıldı. 4,4'-(1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))difenol (**145**) (950 mg, %73) sarı katı madde olarak izomerik karışım halde elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.45 (s, -OH, 1H), 9.25 (s, -OH, 1H), 7.43 – 7.32 (m, =CH, 2H), 7.32 – 7.22 (m, =CH, 1H), 7.19 – 7.14 (m, =CH, 2H), 7.07 – 6.93 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 8H), 6.88 (d, *J* = 14.1 Hz, 2H), 6.86 (s, =CH, 1H), 6.81- 6.73 (m, =CH, 6H), 6.60 – 6.55 (m, =CH, 2H), 6.49 – 6.41 (m, =CH, 2H), 2.45 – 2.24 (m, -CH₂, 4H), 0.82 (dt, *J* = 16.2, 7.4 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 156.1, 155.3, 143.5, 143.0, 140.7, 140.6, 139.8, 139.7, 139.6, 138.1, 137.8, 131.5, 131.4, 130.3, 130.1, 128.9, 128.8, 128.1, 127.2, 125.6, 114.9, 114.1, 28.3, 13.3, 13.2. HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + K]⁺ C₃₈H₃₄O₂ için hesaplanan: 561.2190; bulunan: 561.2191.

2,2'-(((1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (146). Fenolik bileşik **145** (400 mg, 1 mmol), 20 mL tolüen ve 20 mL EtOH içerisinde çözümlenerek üzerine K₂CO₃ (738 mg, 8 mmol) ve 2-dimetilaminoetil klorür hidroklorür (**129**) (384 mg, 4 mmol) ilave edildi. Karışım 100 °C'deki yağ banyosunda 24 saat kaynatıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra üzerine doygun NH₄Cl çözeltisi ilave edilerek 40 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına 20 mL etil asetat ilave edildi, organik faz tuz çözeltisi ile yıkandı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen ham ürün silika jel kolon kromatografisi üzerinden EtOAc/hekzan (1:9) ile yürütüldü. 2,2'-(((1,4-Fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (**146**) (475 mg, %95) izomerik karışım halinde elde edildi. Daha sonra izomerler hekzandan fraksiyonlu kristalizasyon ile ayrıldı. Kristalizasyonda sırasıyla **Z,Z-146** ve **E,E-146** izomerleri saf olarak elde edildi.

1. Fraksiyon: 2,2'-((((1E,1'E)-1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (**E,E-146**): 30 mg, %41, erime noktası = 124-125 °C, beyaz katı madde.

2. Fraksiyon: 2,2'-((((1Z,1'Z)-1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (**Z,Z-146**): 80 mg, %43, erime noktası = 129-130 °C, beyaz katı madde.

2,2'-((((1E,1'E)-1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (E,E-146). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16 – 7.11 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 7.05 – 6.99 (m, =CH, 6H), 6.93 – 6.90 (m, =CH, 2H), 6.90 – 6.88 (m, =CH, 6H), 6.88 – 6.84 (m, =CH, 4H), 4.10 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.76 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.46 (q, *J* = 7.3 Hz, -CH₂, 4H), 2.37 (s, -NCH₃, 12H), 0.92 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.5, 143.4, 141.8, 140.1, 138.0, 136.2, 130.9, 130.6, 129.2, 127.2, 125.6, 114.0, 65.8, 58.3, 45.9, 28.8, 13.5. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M]⁺ C₄₆H₅₂N₂O₂ için hesaplanan: 664.4023; bulunan: 664.4028. HPLC saflığı: %100.

2,2'-((((1Z,1'Z)-1,4-fenilenbis(1-fenilbut-1-en-2,1-diil))bis(4,1-fenilen))bis(oksi))bis(N,N-dimetiletan-1-amin) (Z,Z-146). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29–7.23 (m, =CH, 4H), 7.21–7.18 (m, =CH, 2H), 7.17–7.12 (m, =CH, 4H), 6.87–6.84 (m, =CH, 4H), 6.70–6.65 (m, AA'BB' sisteminin AA' kısmı, =CH, 4H), 6.52–6.42 (m, AA'BB' sisteminin BB' kısmı, =CH, 4H), 3.88 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.59 (t, *J* = 5.8 Hz, -CH₂, 4H), 2.33 (q, *J* = 7.3 Hz, -CH₂, 4H), 2.22 (s, -NCH₃, 12H), 0.82 (t, *J* = 7.4 Hz, -CH₃, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 156.8, 144.1, 141.4, 140.3, 138.0, 135.9, 132.2, 129.7, 129.5, 128.3, 126.6, 113.4, 66.7, 58.4, 45.9, 29.0, 13.8. HRMS (ESI-TOF) m/z: [M]⁺ C₄₆H₅₂N₂O₂ için hesaplanan: 664.4023; bulunan: 664.4027. HPLC saflığı: %98.2.

Antikanser aktivite çalışmaları

Yeni tamoksifen türevi bileşiklerin anti-kanser özellikleri ve östrojen pozitif meme kanserine karşı olan spesifisiteleri analiz edildi. Bu kapsamda, östrojen pozitif hücre hattı MCF-7, triple negatif meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231 ile kontrol olarak normal meme epitel hücre hattı MCF10A hücreleri kullanıldı. Özetle, sentezlenen bileşiklerin hücrelerin canlılığı üzerindeki etkilerini incelemek için hücre canlılık testi yapıldı ve hücre canlılık testinin sonuçlarına göre tüm bileşikler için probit analizleri gerçekleştirilerek IC₅₀ dozları belirlendi. Hesaplanan IC₅₀ dozları standart hatalar ile Tablo 6'da sunulmuştur.

Tamoksifen türevi bileşiklerin spesifisitelerinin belirlenmesi adına östrojen pozitif meme kanseri hücre hattı MCF-7 ve normal meme epitel hücre hattı MCF10A hücrelerinin IC₅₀

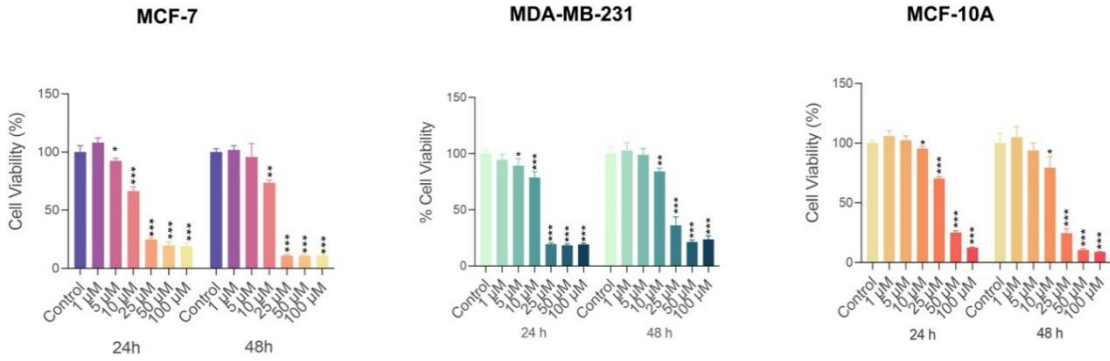
değerleri karşılaştırılmış ve iki hücre hattının IC₅₀ değerleri arasında 2 veya daha fazla kat farkı olan bileşikler potansiyel tamoksifen alternatifi olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra bu bileşiklerden 2 kat ve üzeri spesifisite değerine sahip bileşikler için Kaspaz-8 aktivite değerlendirmesi gerçekleştirilmiştir.



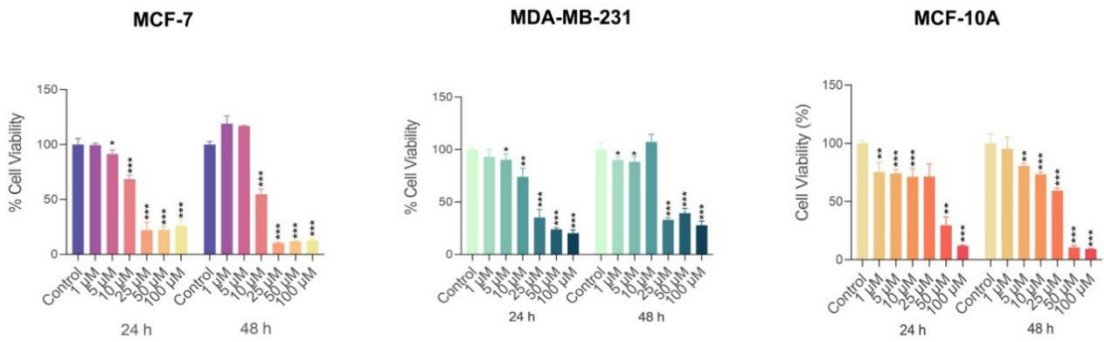
Tablo 6. Tamoksifen Türevi Bileşiklerin Belirlenen IC₅₀ Dozları

Bileşik	MCF-7		MDA-MB-231		MCF10A	
	24. Saat	48. Saat	24. Saat	48. Saat	24. Saat	48. Saat
TMX	25.787±2.14	14.096±0.53	30.848±1.90	25.575±1.94	14.267±0.62	8.263±0.56
E-113	19.551±1.91	14.366±4.04	15.505±1.52	24.323±4.69	36.773±1.08	18.675±4.24
Z-113	20.377±3.30	7.927±3.24	21.121±8.0	23.774±2.76	12.478±5.13	16.946±2.43
E-114	79.516±11.48	30.063±3.18	116.092±20.61	158.050±7.53	326.146±109.03	105.495±15.645
Z-114	56.684±3.39	26.914±4.90	62.024±22.98	69.512±10.56	60.773±1.88	47.225±5.17
Z,Z-132g	148.411±40.69	75.263±29.93	>1000	175.920±53.34	>1000	130.169±45.57
E,E-133g	172.839±65.97	112.707±42.43	>1000	247.689±49.69	>1000	298.277±136.08
Z,Z-132b	76.552±14.22	47.350±6.68	>1000	91.62±1.94	>1000	181.659±43.42
E,E-133b	55.017±9.6	31.665±9.51	>1000	109.734±36.85	>1000	127.541±50.72
Z,Z-132a	153.359±56.68	76.483±14.74	>1000	>1000	>1000	134.406±45.18
E,E-133a	71.736±14.84	24.688±3.58	>1000	179.944±91.41	184.417±32.68	62.916±16.36
Z,Z-132d	138.818±51.25	49.085±12.15	>1000	80.549±24.78	>1000	161.574±58.64
E,E-133d	236.751±123.66	91.804±34.27	726.789±216.9	219.558±106.89	>1000	>1000
Z,Z-132e	70.043	19.785±7.54	19.028±4.45	20.133±12.99	112.261±89.13	6.942±3.23
E,E-133e	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Z,Z-132c	181.871±26.33	53.564±5.59	>1000	>1000	>1000	164.107±55.66
E,E-133c	490.516±102.16	111.145±37.90	>1000	248.477±72.93	>1000	167.626±20.94
Z,Z-132f	97.365±23.89	29.793±9.04	440.731±152.423	388.186±26.54	>1000	>1000
E,E-133f	>1000	270.662±30.43	99.812±20.92	21.143±7.80	>1000	>1000
E,E-139	79.963±6.8	59.552±1.12	>1000	62.846±5.18	124.620±32.30	15.679±6.81
Z,Z-139	31.051±4.6	29.502±0.61	136.118±14.22	173.934±67.61	26.689±6.64	13.845±2.338
E,E-146	16.471±1.35	13.125±2.38	89.812±28.46	97.97±19.08	13.11±3.31	3.14±0.53
Z,Z-146	9.184±1.53	6.86±3.59	28.427±1.68	80.46±7.50	16.188±3.61	9.46±1.38

Şekil 28 ve 29’da **E-113** ve **Z-113** bileşiklerinin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri görülmektedir. Bu bulgulara göre her iki bileşiminde tüm hücre gruplarında canlılığı önemli ölçüde azalttığı görülmektedir. **E-113** ve **Z-113** bileşikleri meme kanseri hücreleri olan MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azaltmış olmasına rağmen, normal hücrelerin canlılığını da önemli ölçüde etkilemiştir. Bu yüzden **E-113** ve **Z-113** bileşiklerinin spesifik bir antikanser ilaç olarak kullanılabilme potansiyelini azaltmaktadır.



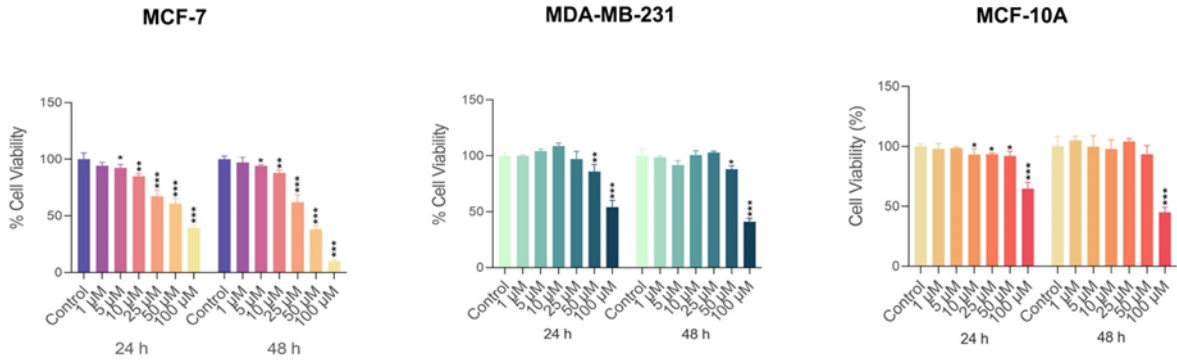
Şekil 28. Bileşik **E-113**’ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri



Şekil 29. Bileşik **Z-113**’ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

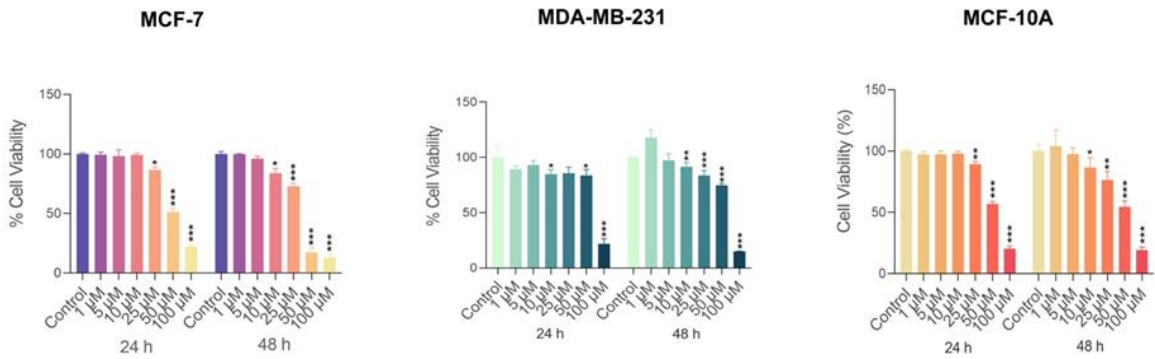
CVDK-8 testinin sonuçlarına göre normal hücreler ile karşılaştırıldığı zaman doza bağlı ölümün gerçekleştiği MCF-7 hücrelerinde **E-114** bileşiği anti kanser etkisi göstermektedir (Şekil 30). **E-114**’ün östrojen pozitif meme kanser hücre hattı MCF-7 hücrelerinde, canlılığı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir ($p < 0.001$). Bununla birlikte **E-114**, normal meme epitel hücre hattı MCF10A hücrelerinde daha az etki gösterdiği ve 48 saat sonunda hücrelerin %50’ye yakın canlı kaldığı bulunmuştur. MCF10A hücrelerdekine benzer etki östrojen negatif MDA-MB-231 hücreleri için de geçerlidir. Bu durum bileşik **E-114**’ün östrojen pozitif meme

kanserinde tamoksifen alternatifi olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir (MCF-7 IC₅₀: 30,063±3,18, MCF10A IC₅₀: 105,495±15,64).



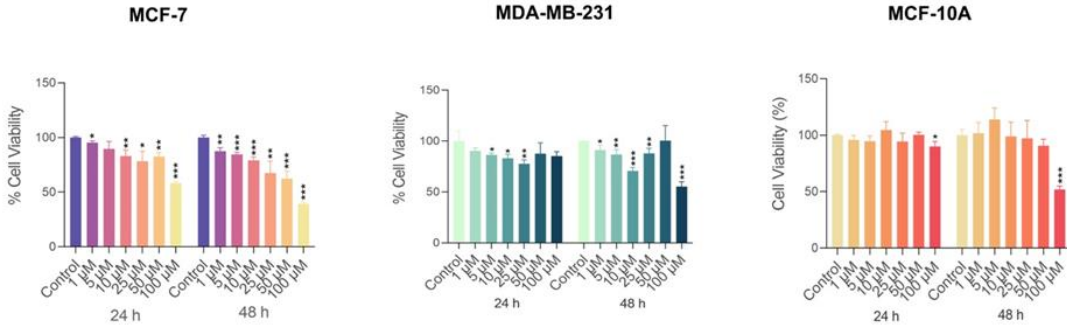
Şekil 30. Bileşik *E-114*'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücreleri üzerindeki canlılığa olan etkileri

Bileşikler *Z-114*, *Z,Z-132g* ve *E,E-133g*'nin östrojen pozitif meme kanseri hücre hattında yüksek dozlarda (50 µM ve 100 µM) aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 31-33). Hem MCF-7 (IC₅₀: 26.914±4.90) hücreleri hem de MCF10A (IC₅₀: 47.225±5.17) hücreleri üzerinde benzer etki göstermesine rağmen, bileşik *Z-114*'ün yüksek dozlarda antikanser aktivite göstermesine rağmen terapötik potansiyelinin düşük olduğu değerlendirilmiştir (Şekil 31).

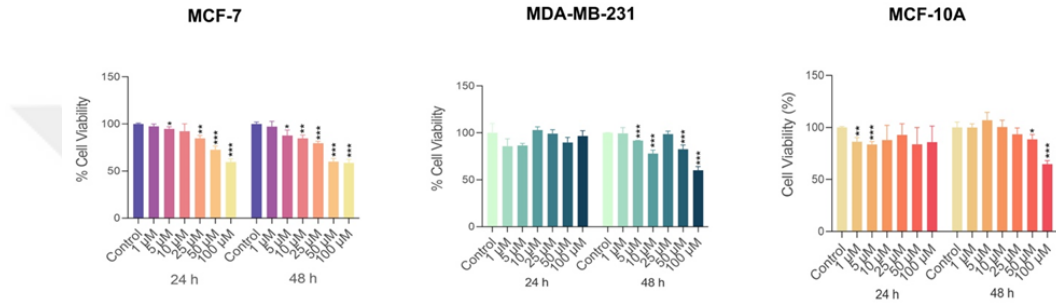


Şekil 31. Bileşik *Z-114*'ün MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri

Bileşikler *Z,Z-132g* ve *E,E-133g* için yapılan canlılık testi sonuçlarına göre her iki bileşiğin de özellikle MCF-7 hücreleri için hesaplanan IC₅₀ değerlerinin (sırasıyla 75.263±29.93 ve 112.707±42.43) yüksek olduğu gözlemlendi (Şekil 32 ve 33).

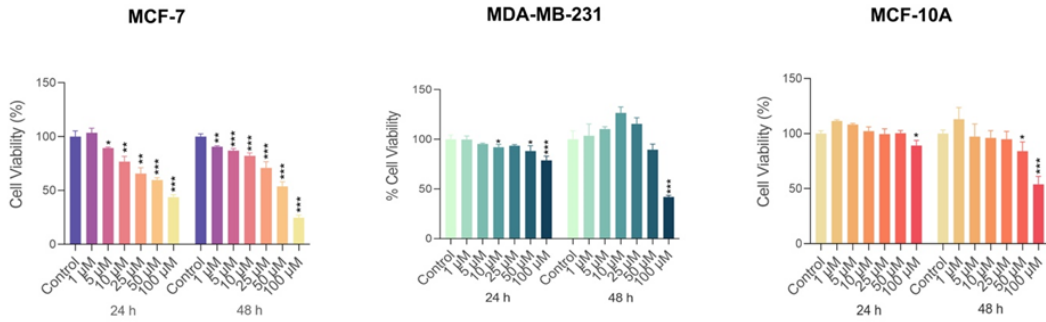


Şekil 32. Bileşik *Z,Z-132g*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri



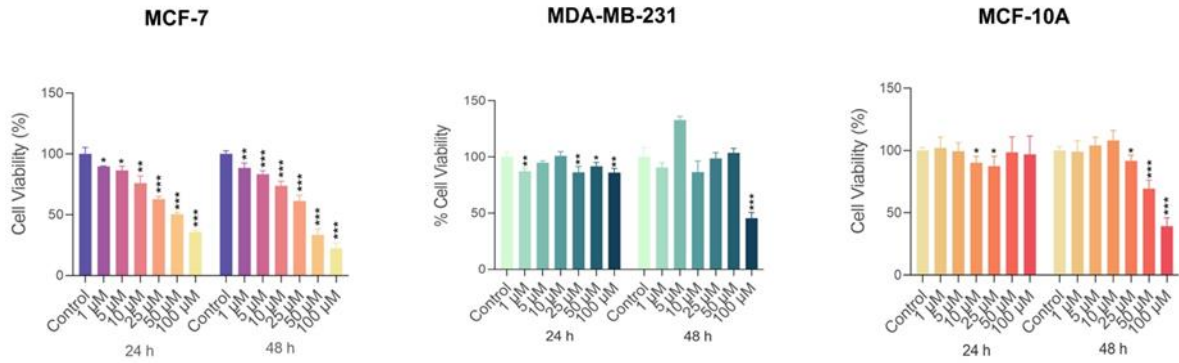
Şekil 33. Bileşik *E,E-133g*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri

Bileşik *Z,Z-132b*'nin MCF-7 hücrelerinde doza bağımlı olarak canlılığı azalttığı belirlendi. Bu bileşiğin aktivite gösterdiği dozlarda canlılığı sırasıyla MCF-7 hücrelerinde %25'lere kadar ($IC_{50}: 47.350 \pm 6.68$) MDA-MB-231 hücrelerinde ise canlılığın %45 seviyelerine kadar ($IC_{50}: 91.62 \pm 1.94$) ve MCF10A hücrelerinde ise %53 seviyelerine kadar ($IC_{50}: 181.659 \pm 43.42$) düştüğü görülmektedir. Bu sonuçlar bileşik *Z,Z-132b*'nin östrojen pozitif meme kanseri hücrelerini diğer iki hücre hattına kıyasla spesifik olarak etkilediğini göstermektedir (Şekil 34).



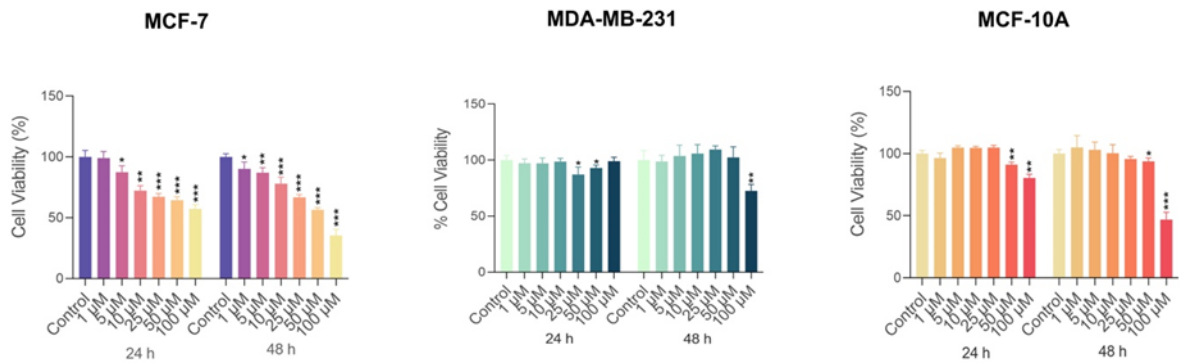
Şekil 34. Bileşik *Z,Z-132b*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerindeki canlılığa olan etkileri

Benzer şekilde bileşik ***E,E-133b***'nin MCF-7 hücrelerinde düşük dozlardan itibaren doza bağlı şekilde canlılığı azalttığı görüldü. Bileşiğin MCF10A hücreleri üzerinde sadece en yüksek dozlarda (50 ve 100 µM) yüksek aktivite gösterdiği, düşük dozlarda ise canlılığı anlamlı şekilde azaltmadığı belirlendi (Şekil 35). MDA-MB-231 hücreleri üçlü negatif meme kanseri hücreleri olduğu için tamoksifen türevi birçok bileşik canlılık üzerinde anlamlı etkiler göstermedi. Bu bulgulardan bileşikler ***Z,Z-132b*** ve ***E,E-133b***'nin östrojen pozitif meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek potansiyel birer ajan olabileceğini göstermektedir (Şekil 34 ve 35).



Şekil 35. Bileşik ***E,E-133b***'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

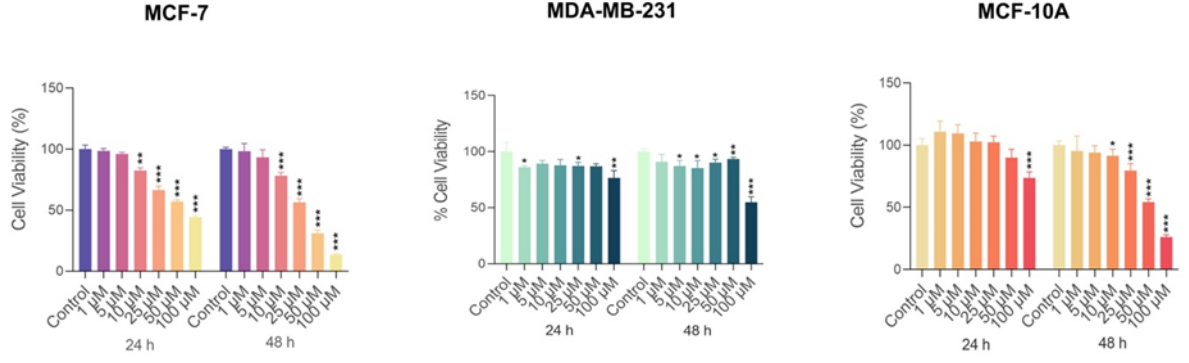
Bileşik ***Z,Z-132a***'da yine doza bağlı olarak özellikle östrojene duyarlı meme kanseri hücrelerinde etki göstermiştir (Şekil 36). Normal meme epitel hücreleri ve üçlü negatif meme kanseri hücreleri 100 µM dozda canlılığı etkilemiştir. Bileşik ***Z,Z-132a***'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücreleri için IC₅₀ değerleri sırasıyla 76.483±14.74, >1000 µM ve 134.406±45.18 olarak bulunmuştur.



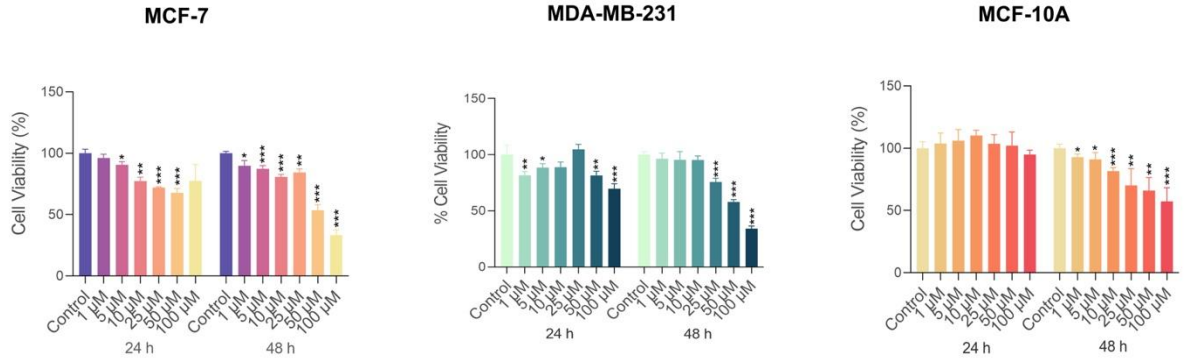
Şekil 36. Bileşik ***Z,Z-132a***'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Şekil 4.10-4.13'de gösterildiği gibi bileşikler ***E,E-133a***, ***Z,Z-132d***, ***E,E-133d*** ve ***Z,Z-132c***'nin diğer hücreler ile kıyaslandığı zaman, östrojen pozitif MCF-7 hücrelerinde doza bağlı olarak anlamlı ölçüde sitotoksik etki ($p < 0.001$) göstermektedir (sırasıyla IC₅₀: 24.688±3.58;

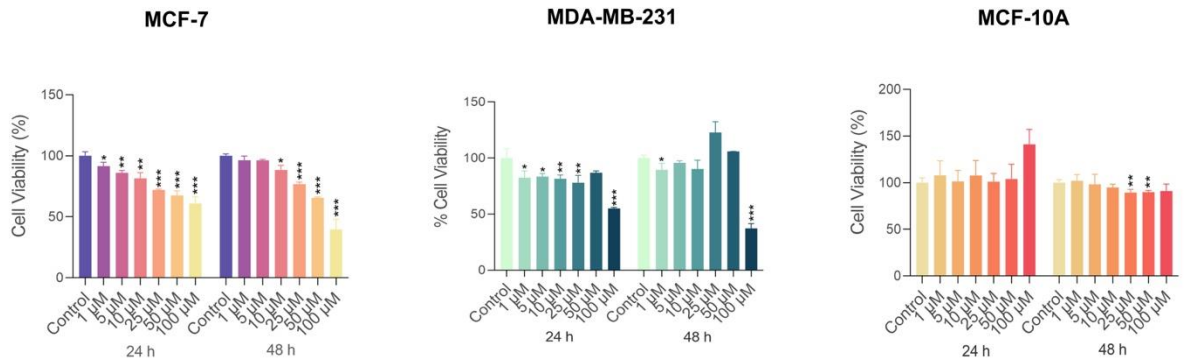
49.085±12.15; 91.804±34.27; 53.564±5.59). Özellikle kontrol olarak kullandığımız normal meme epitel hücreleri üzerinde bileşikler *E,E-133a*, *Z,Z-132d* ve *E,E-133d*, daha az etki göstermiştir (sırasıyla IC₅₀: 62.916±16.36; 161.574±58.64; >1000) (Şekil 37-40). Eldeki bulgular, bileşikler *E,E-133a*, *Z,Z-132d* ve *E,E-133d*'nin antikanser potansiyellerinin olabileceğini ortaya koymaktadır.



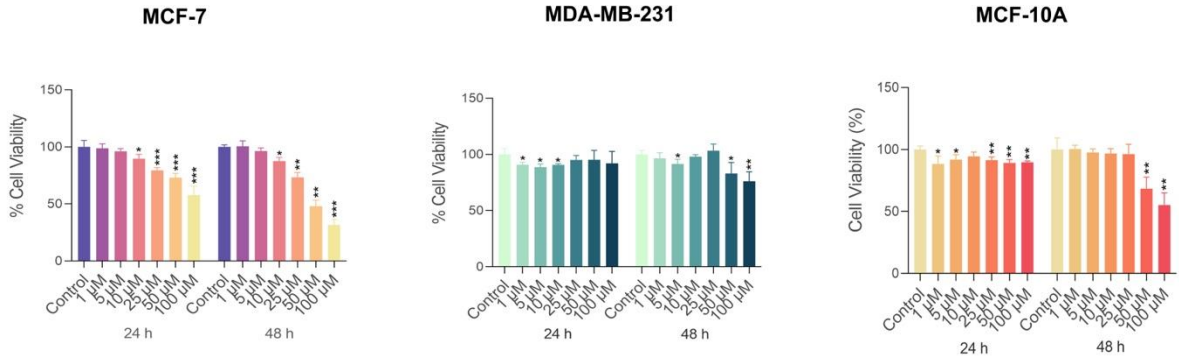
Şekil 37. Bileşik *E,E-133a*'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri



Şekil 38. Bileşik *Z,Z-132d*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

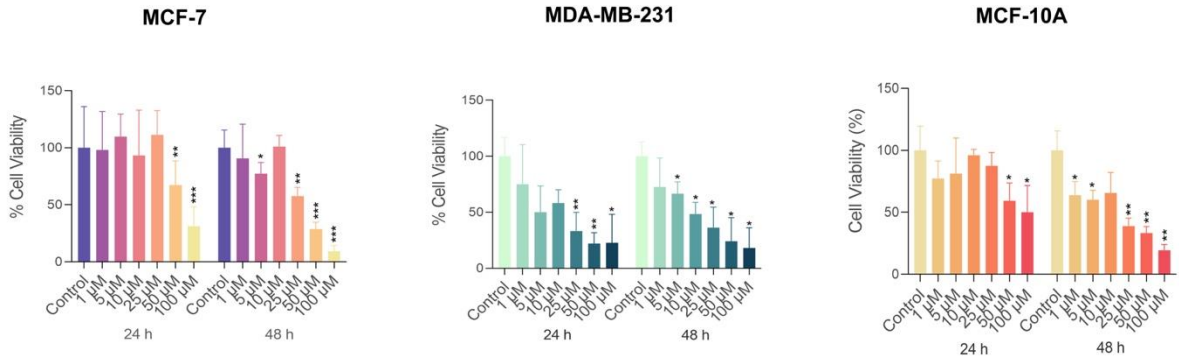


Şekil 39. Bileşik *E,E-133d*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri



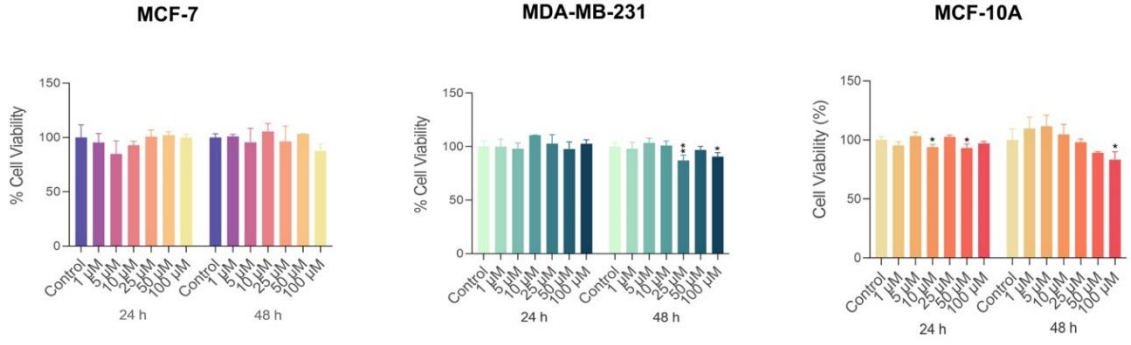
Şekil 40. Bileşik **Z,Z-132c**'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Bileşik **Z,Z-132e**, arka plan kirliliği oluşturmasından dolayı CVDK-8 testi yerine tüm hücre hatlarında canlılık, “Tripan Blue Exclusion Assay” ile değerlendirildi. Alınan sonuçlara göre bileşik **Z,Z-132e**'nin sadece meme kanseri hücrelerinde değil, aynı zamanda normal meme epitel hücrelerinin canlılığını da önemli oranda etkilediğini göstermektedir (Şekil 41). IC_{50} dozlarına bakıldığında zaman 48. saatte MCF-7'nin IC_{50} değeri 19.785 ± 7.54 ve MCF10A'nın 6.942 ± 3.23 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar **Z,Z-132e** bileşiğinin kansere özgü olmadığını göstermektedir.



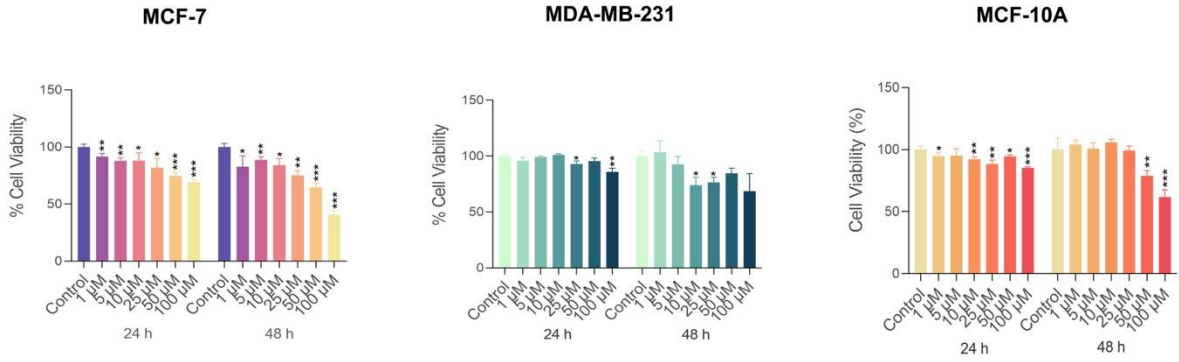
Şekil 41. Bileşik **Z,Z-132e**'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

E,E-133e bileşiğinin tüm hücrelerde IC_{50} dozlarının >1000 olduğu görülmektedir. İlginç bir şekilde bileşik **E,E-133e**'nin herhangi bir aktivite göstermediği bulundu. Bileşik MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinin yanı sıra, MCF-7 hücrelerinin canlılığını da etkilememiştir. Bu sonuç bileşik **E,E-133e**'nin antikanser ilacı olarak etkinliğinin olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 42).



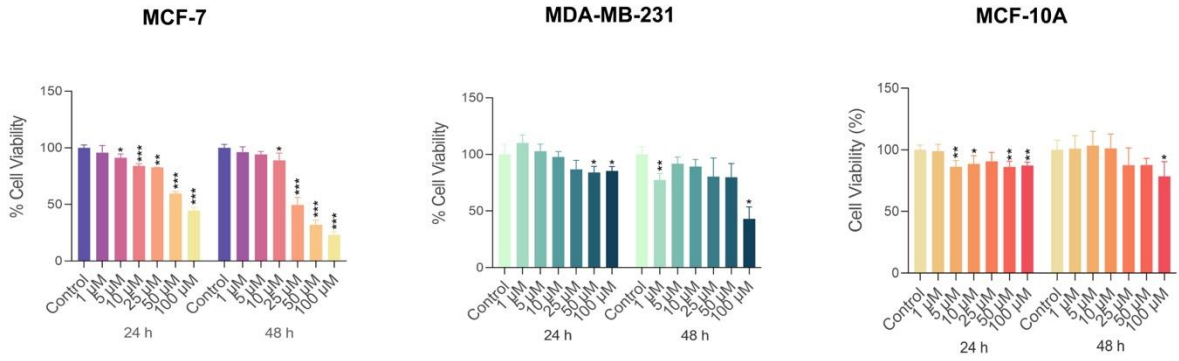
Şekil 42. Bileşik *E,E-133e*'nin MCF-7, MDA-MB231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Bileşik *E,E-133c*, MCF-7 hücre hattında artan ilaç konsantrasyonlarında yüksek düzeyde aktivite göstermiştir. Özellikle 48. saat sonuçlarında en yüksek dozda canlılığı %50 seviyelerin altına düşürdüğü belirlenmiştir. Ancak bileşiğin MCF-7 hücrelerine benzer şekilde MCF10A hücrelerinin canlılığını da yüksek düzeyde azaltmıştır (Şekil 43).

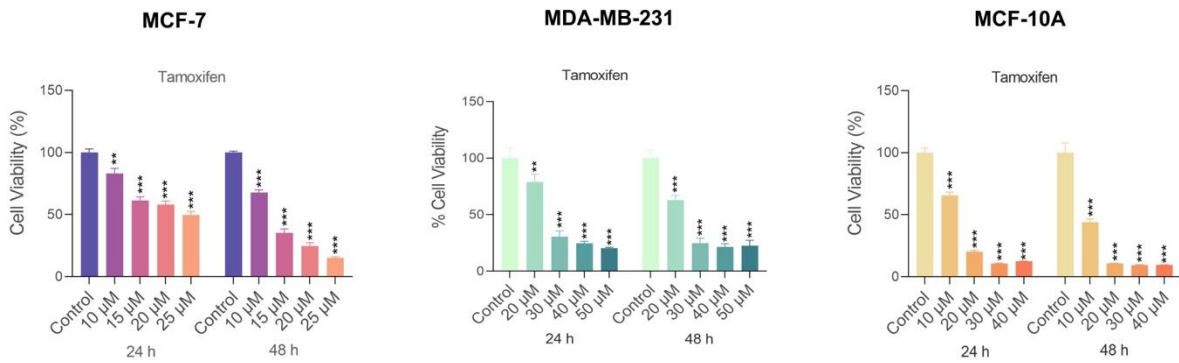


Şekil 43. Bileşik *E,E-133c*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

MDA-MB-231 ve MCF10A ile karşılaştırıldığında, bileşik *Z,Z-132f*'nin östrojen pozitif MCF-7 hücrelerine karşı spesifik antikanser bir etki ortaya koymaktadır (Şekil 44). Bileşik *Z,Z-132f*'nin MCF-7 hücrelerinin canlılığını doza ve zamana bağlı olarak azalttığı belirlenmiştir. En yüksek dozda 48. saatte hücre canlılığı %23 seviyelerine kadar düşmektedir ($p < 0.001$) (IC_{50} : 29.793 ± 9.04). İlginç bir şekilde bileşik *Z,Z-132f*'nin östrojen pozitif meme kanseri için kullanılan tamoksifen ilacından daha yüksek düzeyde spesifite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 45). Bu bulgulardan, bileşik *Z,Z-132f*'nin östrojen pozitif meme kanseri için potansiyel yeni bir antikanser ilaç olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

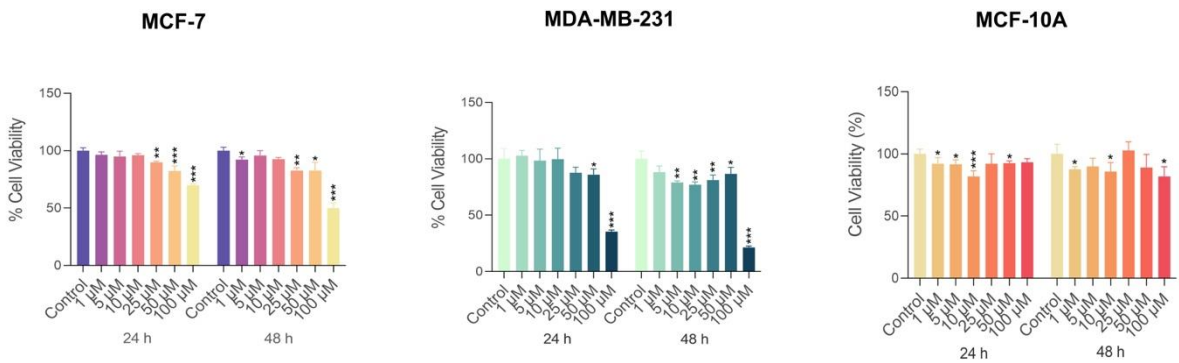


Şekil 44. Bileşik *Z,Z-132f*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri



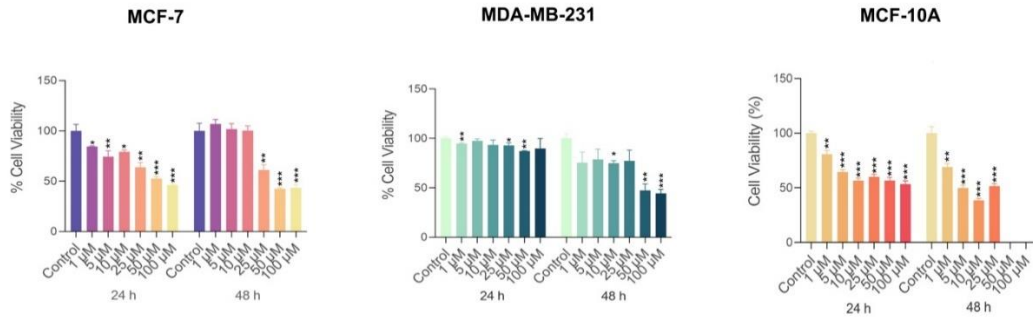
Şekil 45. Tamoksifenin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Bileşik *E,E-133f*, kanser hücrelerinde canlılığı azalttığı görülürken, normal meme epitel hücrelerin canlılığını etkilemediği belirlenmiştir. Tamoksifen östrojene duyarlı meme kanserleri için kullanılmaktadır. Üçlü-negatif meme kanseri hücrelerinin canlılığını diğer hücelere kıyasladığımız zaman bileşik *E,E-133f*'nin yüksek oranda etkilediği belirlenmiştir ($p < 0.001$). Beklenenin aksine tamoksifen türevi olmasına rağmen bileşiğin östrojen pozitif MCF-7 hücrelerine spesifik olarak etki etmediği görülmüştür (Şekil 46).

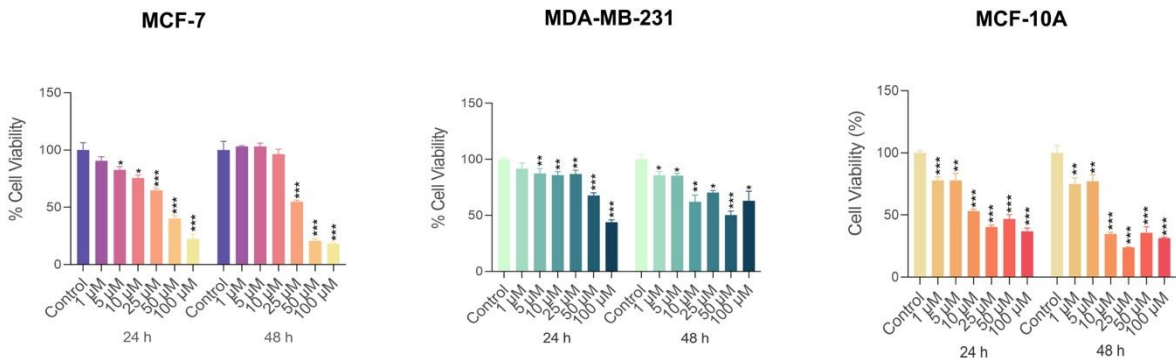


Şekil 46. Bileşik *E,E-133f*'nin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Şekil 47 ve 48’de tamoksifen homo-dimerleri ***E,E-139*** ve ***Z,Z-139***’un MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri gösterilmiştir. Bu bileşiklerin, canlılığı artan dozlara bağlı olarak anlamlı şekilde azalttığı belirlenmiştir. İlginç bir şekilde, bu homo-dimer bileşiklerin östrojen pozitif meme kanseri MCF-7’ye göre kıyasla MCF10A hücrelerinde canlılığı daha etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Homo-dimer bileşiklerin MCF10A hücrelerinde, MCF-7 hücrelerine göre daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları görülmektedir (Tablo 6). Şekil 47 ve 48’de gösterilen MCF10A’ya uygulanan ***E,E-139*** izomerinin ölçümleri öncesinde yapılan mikroskopik incelemelerde en yüksek dozlarda canlılığı çok yüksek düzeyde azalttığı belirlenmiştir. Ancak, arka planda kirlilik olmasından dolayı absorbans ölçümlerinde yanlış pozitif sonuç meydana gelmiştir. Bu yüzden grafiklerde ve IC₅₀ hesaplamasında en yüksek değerler dikkate alınmamıştır (Şekil 4.20 ve 4.21). Elde ettiğimiz bulgular tamoksifenin homo-dimerleri ***E,E-139*** ve ***Z,Z-139*** bileşiklerinin, tamoksifen türevi potansiyel antikanser ilaç olarak kullanılma ihtimalinin olmadığını göstermiştir (Şekil 47 ve 48).



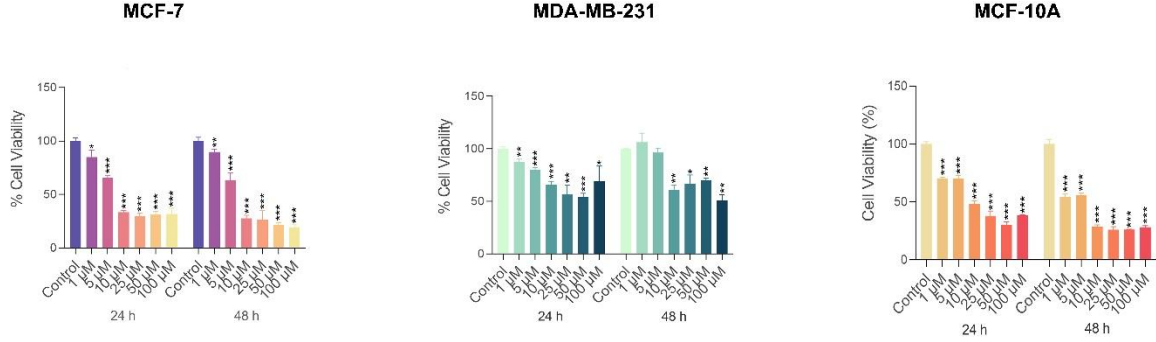
Şekil 47. Bileşik ***E,E-139***’un MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri



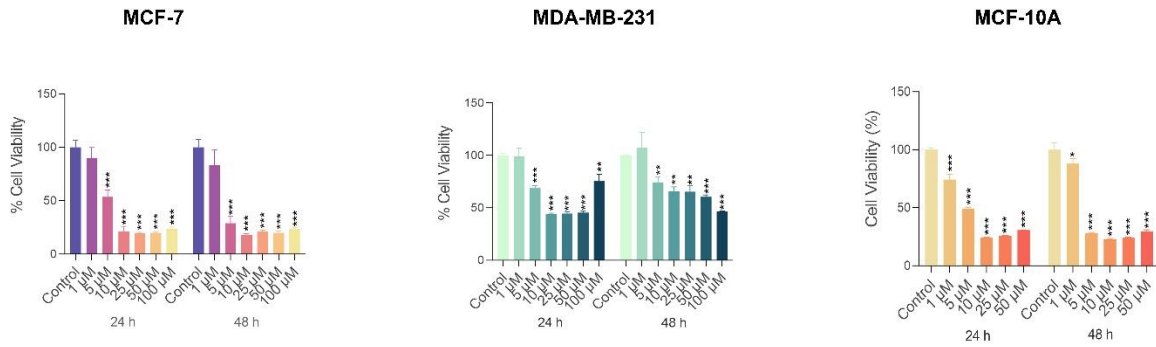
Şekil 48. Bileşik ***Z,Z-139***’un MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

Tamoksifenin bir diğer homo-dimeri olan ***E,E-146***, 10 µM dozdan itibaren hem 24 hem de 48. saatte canlılığı etkili bir şekilde azaltmıştır. Benzer şekilde bu bileşiğin normal meme epitel hücrelerinin canlılığını da yüksek oranda etkilediği gösterilmiştir (Şekil 49). Diğer

izomer **Z,Z-146**'nın ise MCF-7 ve MCF10A hücrelerinin canlılığını yüksek dozlarda %20'lere kadar düşürdüğü gösterilmiştir (Şekil 50). Dolayısıyla bu sonuçlar, **E,E-146** ve **Z,Z-146** dimerlerinin normal ve kanserli hücrelerin canlılığını yüksek oranda etkilemesinden dolayı kanser hücrelerine özgü herhangi bir spesifik etki göstermemiştir.



Şekil 49. Bileşik **E,E-146**'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

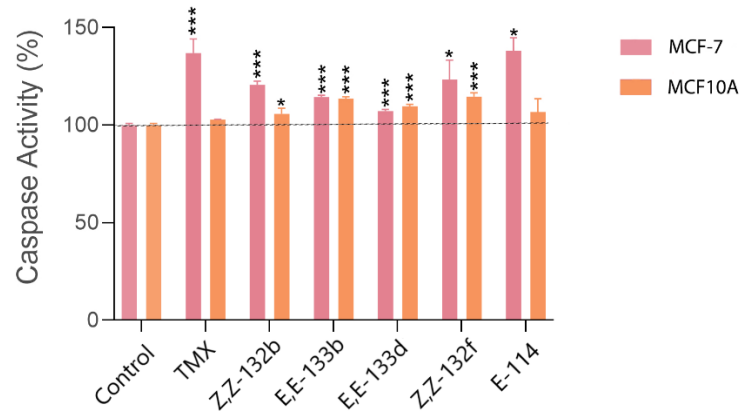


Şekil 50. Bileşik **Z,Z-146**'nın MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

TMX-türevi bileşiklerin meme kanseri hücrelerinde apoptotik etkilerinin değerlendirilmesi

Canlılık testi sonucunda elde edilen verilerden IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve 9 adet bileşik, tamoksifen alternatifi olabileceği değerlendirilmiştir. Daha sonra bu bileşiklerin içerisinde IC₅₀ değerleri arasındaki farkın en fazla olduğu 4 adet bileşik (**Z,Z-132b**; **E,E-133b**; **E,E-133d**; **Z,Z-132f**) seçilmiştir. Bileşiklerin etkin dozları, MCF-7 hücreleri için belirlenen 48. saat IC₅₀ dozlarından oluşturulmuştur. Deneyde kullanılan tüm hücreler, belirlenen IC₅₀ dozlardaki konsantrasyonlarla muamele edilmiştir. Bu bileşiklerin hücrelerdeki apoptoz aktivitesinin belirlenmesi için "Caspase Assay" deneyi yapılmıştır. Deneyde ilaçtan izole edilen ve tuz formatında olmayan **Z-tamoksifen** bileşiği pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

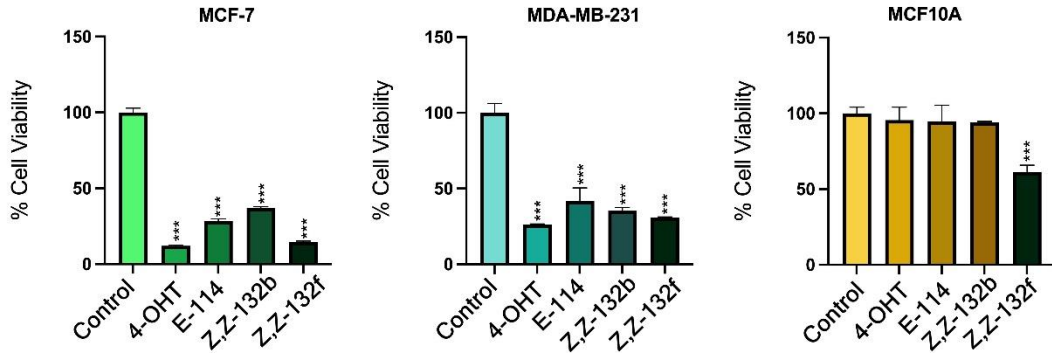
Apoptoz deneyinin sonuçlarına göre bu dört bileşiğin tamamının kaspaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak MCF-7 hücrelerinde bu aktivite MCF10A hücrelerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle tamoksifen yerine kullanılabilir potansiyele sahip olan bileşik **Z,Z-132f**'nin kaspaz aktivitesinin, MCF-7 hücrelerinde kontrol grubuna ve MCF10A hücrelerine kıyasla oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde bileşik **Z,Z-132b**, MCF10A hücrelerindeki aktivitesiyle karşılaştırıldığında, MCF-7 hücrelerinde apoptozu daha iyi bir şekilde indüklediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar bileşikler **Z,Z-132b** ve **Z,Z-132f**'nin tamoksifen yerine kullanılabilir potansiyele sahip ajanlar olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 51).



Şekil 51. MCF-7 ve MCF10A hücrelerinde bileşikler **Z,Z-132b**; **E,E-133b**; **E,E-133d** ve **Z,Z-132f** ve **E-114** bileşiklerinin kaspaz aktiviteleri.

TMX, 4-OHT ve belirlenen tamoksifen türevi bileşiklerin canlılık üzerine olan etkileri

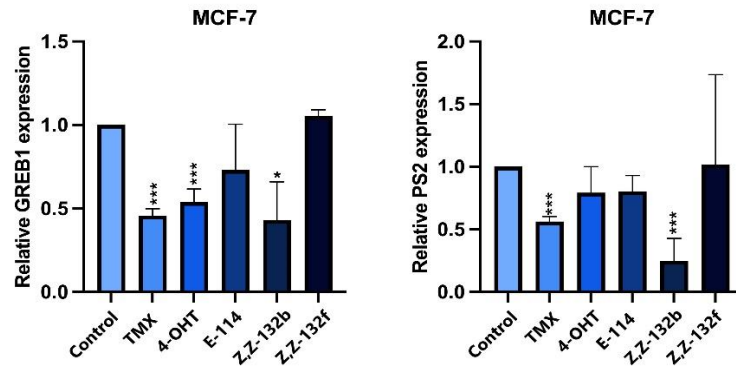
Son olarak, **E-114**, **Z,Z-132b** ve **Z,Z-132f** bileşiklerinin 24.saat IC₅₀ dozları, ER pozitif meme kanseri hücrelerine karşı anti-kanser potansiyellerini doğrulamak için TMX'in ana aktif metabolitlerinden biri olan 4-OHT (Aravindan vd., 2015) pozitif kontrol olarak kullanılarak, hem sağlıklı hem de kanserli hücreler ile 48 saat boyunca muamele edildi. Deneyler sonucunda 4-OHT, MCF10A hücrelerinin canlılığına etki etmemesine rağmen, hem MCF-7 hem de MDA-MB-231 hücrelerinin canlılığını başarıyla inhibe ettiği görüldü. Benzer şekilde, **E-114**, **Z,Z-132b** sağlıklı meme epitel hücresi MCF10A'yı etkilemeden kanser hücrelerinin canlılığını azalttığı belirlendi. Ancak **Z,Z-132f** bileşiğinin hem sağlıklı hem de kanser hücrelerine karşı sitotoksosite gösterdiği belirlendi (Şekil 52).



Şekil 52. *E-114*, *Z,Z-132b* ve *Z,Z-132f* bileşiklerinin MCF-7, MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinde canlılığa olan etkileri

TMX-türevi bileşiklerin ER alfanın hedef genleri üzerine olan etkisinin belirlenmesi

Tamoksifen türevi bileşiklerin ER tarafından düzenlenen gen ifadelerinin inhibisyonu üzerindeki potansiyelini daha fazla doğrulamak için, iyi karakterize edilmiş iki ER hedef geninin (GREB1 ve PS2) ifadesini ölçmek için qRT-PCR gerçekleştirildi (Mohammed vd., 2013; Haines vd., 2018; Saha Roy and Vadlamudi 2012). Her iki genin ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde başarıyla bastıran pozitif kontroller olarak TMX ve 4-OHT kullanıldı. İlginç bir şekilde *Z,Z-132b*, her iki genin ekspresyonunu önemli ölçüde baskıladı. Ek olarak, *E-114* de önemli olmamakla birlikte bu genlerin ifadelerini bir miktar inhibe ettiği belirlendi (Şekil 53).

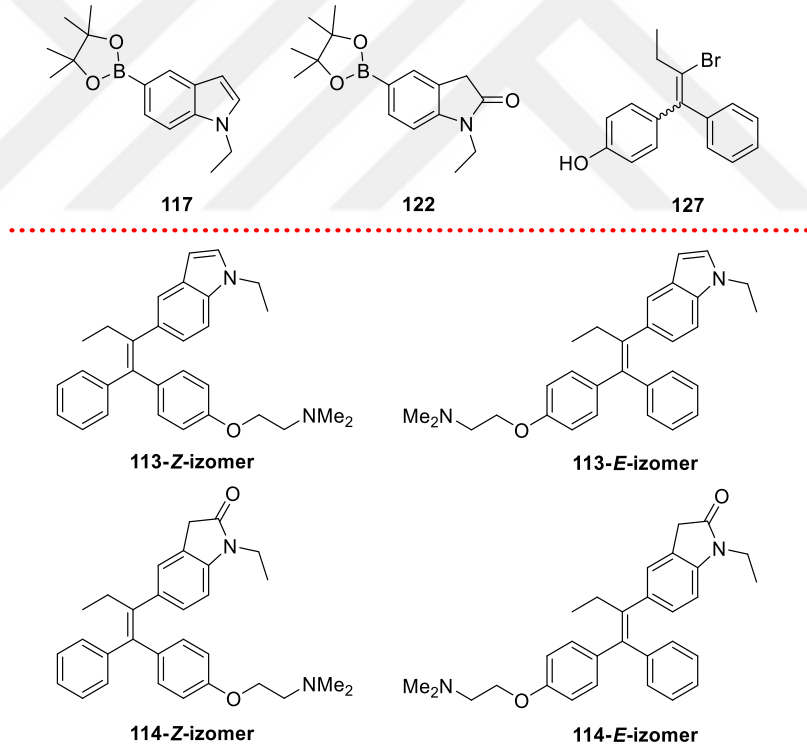


Şekil 53. *E-114*, *Z,Z-132b* ve *Z,Z-132f* bileşiklerinin gen ekspresyon deneyleri

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Sentez çalışmalarında karbon-karbon ikili ve tekli bağ oluşturma yeteneklerinden dolayı McMurry kenetlenmesi ve Suzuki çapraz kenetlenme reaksiyonlarının yanı sıra alkilasyon reaksiyonları kullanıldı.

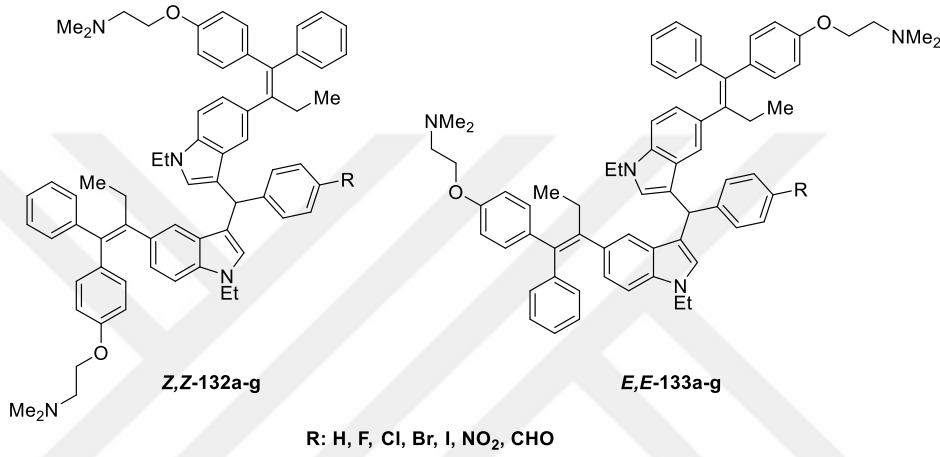
Bu tez çalışmasında ilk önce, tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevlerinin elde edilmesi için kenetlenme reaksiyonlarında kullanılmak amacıyla boronik asit ester türevleri **117** ve **122** ile çıkış bileşiği vinilbromür **127** hazırlandı (Şekil 54). Boronik asit esterlerin vinilbromür türevleri ile Suzuki kenetlenme reaksiyonları paladyum katalizli olarak gerçekleştirildi. Fenol gruplarının alkilasyon ile hedeflenen tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevleri **113** ve **114**'ün sentezleri gerçekleştirildi. Kromatografi ve kristallendirme yöntemleri kullanılarak saf izomerler **Z-113**, **E-113**, **Z-114** ve **E-114** elde edildi (Şekil 54).



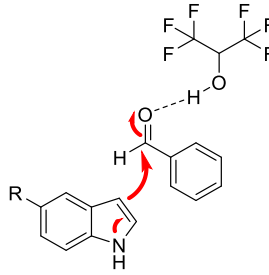
Şekil 54. Öncü bileşikler ve tamoksifen-temelli indol ve oksindol türevlerinin yapıları

Tamoksifen-temelli indol türevlerinin sentez çalışmalarının sonrasında, bu türevlerin her iki izomerinin C3-pozisyonu üzerinden aldehytler ile reaksiyonlarından bis(indolil)metan türevlerinin sentezlerinin gerçekleştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Optimizasyon çalışmalarından indol ve aldehyt türevleri arasındaki reaksiyonların hekzafloroizopropanol (HFIP) içerisinde gerçekleştiği belirlenmiştir. HFIP polar bir çözücü olmasının yanı sıra

kuvvetli hidrojen bağı yapma kabiliyeti nedeniyle birçok tepkimeyi katalizlemektedir. Yedi adet benzaldehit türevi (**131a-g**) ve *E*- ve *Z*-**113** arasındaki reaksiyonlar HFIP katalizli olarak gerçekleşmiş ve tamoksifen-bis(indolil)metan bileşikleri (*Z,Z*-**132a-g** ve *E,E*-**133a-g**) sentezlenmiştir (Şekil 55). Sentezler sırasında özellikle *E*-**113** izomeri ile yapılan reaksiyonlarda tamoksifen kimyasında da sıklıkla karşılaşılan izomerleşmenin gerçekleştiği gözlenmiştir. Ayrıca tereftaldehit (**131f**) ile yapılan reaksiyonlarda aldehitlerden sadece bir tanesi reaksiyona girmiş, ikinci aldehit üzerinden bis(indolil)metan oluşumu gözlenmemiştir. Aldehit karbonil oksijeni ile HFIP'deki alkol protonu arasındaki hidrojen bağının aldehit grubunun reaktivitesini artırarak reaksiyonu katalizlediği düşünülmektedir (Şekil 56).

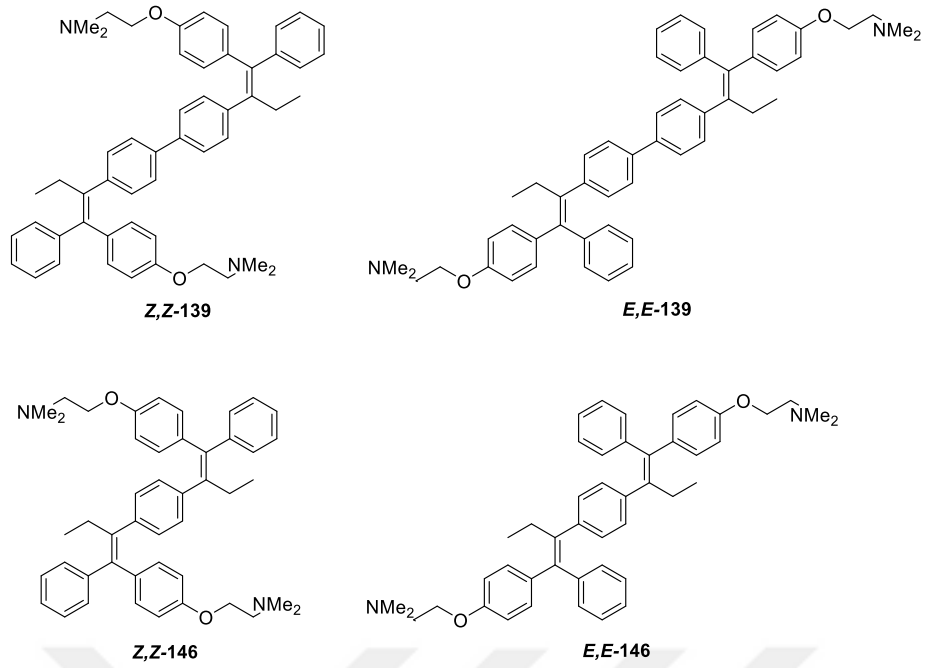


Şekil 55. Tamoksifen-temelli bis(indolil)metan türevlerinin yapıları.



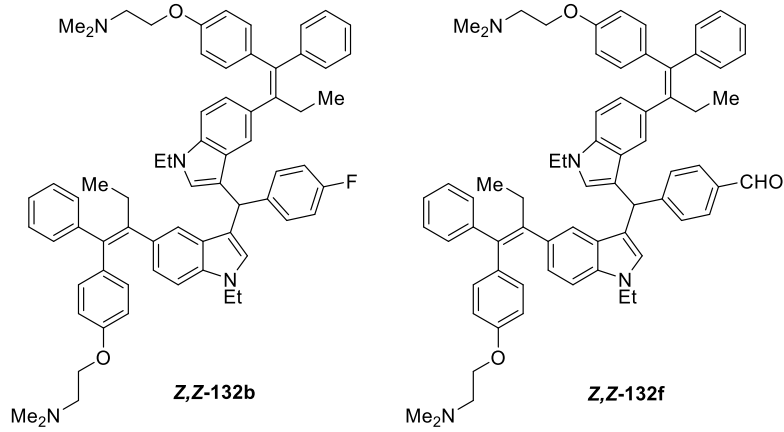
Şekil 56. Tamoksifen-temelli bis(indolil)metan türevlerinin oluşumu için önerilen mekanizma

Tamoksifen molekülünün fenil halkası üzerinden homo-dimerik yapılarının elde edilmesi de hedeflenmiştir. Homo-dimerik tamoksifenlerin hazırlanmasında Suzuki reaksiyonunun kullanılabilirliğini araştırılarak, hedeflenen moleküller elde edilmiştir (Şekil 57).



Şekil 57. Homo-dimer tamoksifenlerin yapıları

Sentezlenen ürünler saflaştırarak, yapıları spektroskopik olarak karakterize edilmiştir. Elde edilen yeni moleküllerin olası antikanser etkisi, meme kanseri hücreleri üzerinde deneysel çalışmalarla belirlenmiştir. Çalışmada, yeni nesil antikanser ajanları olarak kullanılabilir tamoksifen türevleri **Z,Z-132b** ve **Z,Z-132f** elde edilmiştir. Bu tamoksifen türevlerinin MCF-7 hücresine spesifik olarak etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 58).



Şekil 58. Çalışmada elde edilen yeni antikanser ajanları

Bu tez çalışmasından aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Fenil halklarından birisinin indol ve oksindol halkalarıyla değiştirildiği izomerik tamoksifen türevleri sentezlendi.
- Tamoksifen-indol türevi bileşiklerin benzaldehitlerle reaksiyonlarından bis(indolil)metan türevleri elde edildi.

- Tamoksifenin fenil halkası üzerinden homo-dimer yapılarının sentezleri gerçekleştirildi.
- Tamoksifen türevi bileşiklerin anti-kanser özellikleri ve östrojen pozitif meme kanserine karşı olan spesifisite analiz edildi.

Öneriler

- Tez çalışması kapsamında elde edilen bileşiklerin başka uygulama çalışmalarının gerçekleştirilmesi önerilmektedir.
- Sentezlenen tamoksifen-temelli bileşiklerin başka kanser türlerine karşı etkileri de araştırılmalıdır.
- Bileşiklerin farklı tuz formları da hazırlanarak anti-kanser özellikleri ve östrojen pozitif meme kanserine karşı olan spesifisite analiz çalışmaları gerçekleştirilmelidir.
- Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar; organik sentez ve biyoaktivite ile ilgili yapılacak olan yeni çalışma ve projelerin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abu, N., Akhtar, M. N., Yeap, S. K., Lim, K. L., Ho, W. Y., Zufadli, A. J., Alitheen, N. B. 2014. "Flavokawain A induces apoptosis in MCF-7 and MDA-MB231 and inhibits the metastatic process in vitro." *PLoS One*, 9(10), e105244.
- Alacacioğlu, İ. and Özcan, M. A. 2012. "Usage of Tyrosine Kinase Inhibitors in Leukemia." *Turkiye Klinikleri J. Hematol-Oncol Special Topics.*, 5(1), 81.
- Altharawi, A., Rahman, K. M., Chan, K. L. A. 2020. "Identifying the responses from the estrogen receptor-expressed MCF-7 cells treated in anticancer drugs of different modes of action using live-cell FTIR spectroscopy." *ACS Omega*, 5(22), 12698-12706.
- American Joint Committee on Cancer. Past Editions of the AJCC Cancer Staging Manual.
- Aravindan, B. K., Prabhakar, J., Somanathan, T., Subhadra, L. 2015. "The role of chemokine receptor 4 and its ligand stromal cell derived factor 1 in breast cancer." *Ann. Transl. Med.*, 3(2).
- Ashida, Y., Honda, A., Sato, Y., Nakatsuji, H., Tanabe, Y. 2018. *Chemistry Open*, 2017, 6, 73–89.
- Awada, A., Thödtmann, R., Piccart, M. J., Wanders, J., Schrijvers, A. H. G. J., Von Broen, I. M., Hanauske, A. R. 2003. "An EORTC-ECSG phase I study of LU 79553 administered every 21 or 42 days in patients with solid tumours," *Eur. J. Cancer*, 39(6), 742-747.
- Barлак, N., Capik, O., Sanli, F., Kilic, A., Aytatli, A., Yazici, A., Karatas, O. F. 2020. "ING5 inhibits cancer aggressiveness by inhibiting Akt and activating p53 in prostate cancer." *Cell Biol. Int.*, 44(1), 242-252.
- Bartolucci, S., Bartocchini, F., Righi, M., Piersanti, G. 2011. "Direct, Regioselective, and Chemoselective Preparation of Novel Boronated Tryptophans by Friedel–Crafts Alkylation." *Org. Lett.*, 14, 600-603.
- Bergmann, K. E., Wooge, C. H., Carlson, K. E., Katzenellenbogen, B. S., Katzenellenbogen, J. A. 1994. "Bivalent ligands as probes of estrogen receptor action." *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 49(2-3), 139-152.
- Bérubé, G. 2006. "Natural and synthetic biologically active dimeric molecules: anticancer agents, anti-HIV agents, steroid derivatives and opioid antagonists." *Curr. Med. Chem.*, 13(2), 131-154.
- Boger, D. L., Boyce, C. W., Garbaccio, R. M., Goldberg, J. A. 1997. "CC-1065 and the duocarmycins: Synthetic studies." *Chem. Rev.*, 97(3), 787-828.
- Boger, D. L., Coleman, R. S., Invergo, B. J. 1987. "Studies on the total synthesis of CC-1065: preparation of a synthetic simplified 3-carbamoyl-1,2-dihydro-3H-pyrrolo[3,2-e]indole dimer/trimer/tetramer (CDPI dimer/trimer/tetramer) and development of methodology for PDE-I dimer methyl ester formation." *J. Org. Chem.*, 52(8), 1521-1530.
- Brana, M. F. and Ramos, A. 2001. "Naphthalimides as anticancer agents: synthesis and biological activity." *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, 1(3), 237-255.
- Breedveld, F. C., Han, C., Bala, M., van der Heijde, D., Baker, D., Kavanaugh, A. F., Lipsky, P. E. 2005. "Association between baseline radiographic damage and improvement in

- physical function after treatment of patients with rheumatoid arthritis.” *Ann. Rheum. Dis.*, 64(1), 52-55.
- Bringmann, G., Saeb, W., Koppler, D., Francois, G. 1996. “Jozimine A (‘dimeric’ dioncophylline A), a non-natural michellamine analog with high antimalarial activity.” *Tetrahedron*, 52(42), 13409-13418.
- Chaires, J. B., Leng, F., Przewloka, T., Fokt, I., Ling, Y. H., Perez-Soler, R., Priebe, W. 1997. “Structure-based design of a new bisintercalating anthracycline antibiotic.” *J. Med. Chem.*, 40(3), 261-266.
- Chen, H., Liu, H., Zhao, S. H., Cheng, S. B., Xu, X. Y., Yuan, W. C., Zhang, X. M. 2019. “Enantioselective Arylation of 3-Carboxamide Oxindoles with Quinone Monoimines and Synthesis of Chiral Spirooxindole-benzofuranones.” *Synlett*, 30(09), 1067-1072.
- Cummins, C. H. 1995. “Stereospecific syntheses of clomiphene and tamoxifen via stannylcupration of diphenylacetylene.” *Synth. Commun.*, 25(24), 4071-4079.
- Dahl, O. 1983. “Hyperthermic potentiation of doxorubicin and 4'-epi-doxorubicin in a transplantable neurogenic rat tumor (BT4A) in BD IX rats.” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 9(2), 203-207.
- Dai, X., Mei, Y., Chen, X., Cai, D. 2019. “ANLN and KDR are jointly prognostic of breast cancer survival and can be modulated for triple negative breast cancer control.” *Front. Genet.*, 10, 790.
- Dalkara, S. 2016. *Reseptörler ve İlaç Reseptör Etkileşmeleri*. Farmasötik Kimya 1.
- Dalkara, S. ve Saraç, S. 2016. *İlaç Tasarımı ve Yeni İlaç Geliştirme*. Farmasötik Kimya 1.
- Das, M., and Wakelee, H. 2012. “Targeting VEGF in lung cancer.” *Expert Opin. Ther. Targets*, 16, 4, 395-406.
- Deb, M. L., Borpatra, P. J., Pegu, C. D., Thakuria, R., Saikia, P. J., Baruah, P. K. 2017. “Iodine/tert-Butyl Hydroperoxide-Mediated Reaction of Indoles with Dimethylformamide/Dimethylacetamide to Synthesize Bis-and Tris (indolyl) methanes.” *ChemistrySelect*, 2, 140–146.
- Deglin, J. H., and Vallerand, A. H. 2012. “Davis's drug guide for nurses.” FA Davis Co.
- Dickens, E. and Ahmed, S. 2018. “Principles of cancer treatment by chemotherapy.” *Surgery (Oxf)*, 36(3), 134–138.
- Donato, C., Kunz, L., Castro-Giner, F., Paasinen-Sohns, A., Strittmatter, K., Szczerba, B. M., Aceto, N. 2020. “Hypoxia triggers the intravasation of clustered circulating tumor cells.” *Cell Rep.*, 32(10), 108105.
- Ebrahimi N., S., Yusoff, F. M., Mohamed Alitheen, N. B., Rasoli, M., Keong, Y. S., Omar, A. R. B. 2013. “Cytotoxic effect of ethanol extract of microalga, *Chaetoceros calcitrans*, and its mechanisms in inducing apoptosis in human breast cancer cell line.” *BioMed Res. Int.*, 2013.
- Ekthawatchai, S., Kamchonwongpaisan, S., Kongsaree, P., Tarnchompoo, B., Thebtaranonth, Y., Yuthavong, Y. 2001. “C-16 artemisinin derivatives and their antimalarial and cytotoxic activities: syntheses of artemisinin monomers, dimers, trimers, and tetramers by nucleophilic additions to artemisitene.” *J. Med. Chem.*, 44(26), 4688-4695.
- Etti, I. C., Abdullah, R., Kadir, A., Hashim, N. M., Yeap, S. K., Imam, M. U., Rahman, M. 2017. “The molecular mechanism of the anticancer effect of Artonin E in MDA-MB 231 triple negative breast cancer cells.” *PLoS One*, 12(8), e0182357.

- Fujii, Y., Tamura, Y., Hashimoto, N., Endo, N., Iwasawa, T. 2019. "Stereo-Defined Synthetic Route to (*E*)-and (*Z*)-Tamoxifen Derived from (*E*)-1-Bromo-2-iodoalkenes." *ChemistrySelect*, 4(9), 2721-2725.
- Groleau, S., Nault, J., Lepage, M., Couture, M., Dallaire, N., Bérubé, G., René, C. 1999. "Synthesis and preliminary in vitro cytotoxic activity of new triphenylethylene dimers." *Bioorg. Chem.*, 27(5), 383-394.
- Grundl, M., Oost, T., Pautsch, A., Peters, S., Riether, D. 2013. US Patent Application No 2013/0172327.
- Ha, P. T., Nguyen, O. T., Huynh, K. D., Nguyen, T. T., Phan, N. T. 2018. "Synthesis of unnatural arundines using a magnetically reusable copper ferrite catalyst." *Synlett.*, 29, 2031-2034.
- Haines, C. N., Braunreiter, K. M., Mo, X. M., Burd, C. J. 2018. "GREB1 isoforms regulate proliferation independent of ER α co-regulator activities in breast cancer." *Endocr. Relat. Cancer*, 25(7), 735.
- Hartmann, J. T., Haap, M., Kopp, H. G., Lipp, H. P. 2009. "Tyrosine kinase inhibitors-a review on pharmacology, metabolism and side effects." *Curr. Drug Metab.*, 10(5), 470-481.
- Holzschneider, K., Mohr, F., Kirsch, S. F. 2018. "Synthesis and Reactivity of 3, 3-Diazidooxindoles." *Org. Lett.*, 20(22), 7066-7070.
- Hu, W., Zhao, J., Hua, W., Gou, S. 2018. "A study on platinum (IV) species containing an estrogen receptor modulator to reverse tamoxifen resistance of breast cancer." *Metallomics*, 10(2), 346-359.
- Jana, D. and Ghorai, B. K. 2012. "Synthesis and Aggregation-Induced Emission Properties of Tetraphenylethylene-Based Oligomers Containing Triphenylethylene Moiety." *Tetrahedron Lett.*, 53, 6838–6842.
- Kasiotis, M. K., and Haroutounian, A. S. 2012. "Tamoxifen: a synthetic overview." *Curr. Org. Chem.*, 16(3), 335-352.
- Kim, M. S., and Jeong, I. H. 2005. "A highly stereoselective preparation of CF₃-substituted 1-aryl-1, 2-diphenylethenes: application to the synthesis of panomifene." *Tetrahedron Lett.*, 46(20), 3545-3548.
- Kocak, C., Kocak, F., Ozturk, B., Tekin, G., Vatansev, H. 2020. "Cytotoxic, anti-proliferative and apoptotic effects of nospapine on human estrogen receptor positive (MCF-7) and negative (MDA-MB-231) breast cancer cell lines." *Bratisl. Med. J.*, 121(1), 43-50.
- Kren, V., Fiserova, A., Weignerová, L., Stibor, I., Halada, P., Prikrylová, V., Pospisil, M. 2002. "Clustered ergot alkaloids modulate cell-mediated cytotoxicity." *Bioorg. Med. Chem.*, 10(2), 415-424.
- Kucukdumlu, A., Tuncbilek, M., Guven, E. B., Atalay, R. C. 2017. "Synthesis of some substituted 6-phenyl purine analogues and their biological evaluation as cytotoxic agents." *Acta Chim. Slov.*, 64(3), 621-632.
- Kuriyama, M., Shinozawa, M., Hamaguchi, N., Matsuo, S., Onomura, O. 2014. "Palladium-Catalyzed Synthesis of Heterocycle-Containing Diarylmethanes through Suzuki-Miyaura Cross-Coupling." *J. Org. Chem.*, 79, 5921-5928.
- Lafzi, F., Kilic, H., Saracoglu, N. 2019. "Protocols for the Syntheses of 2,2'-Bis(indolyl)arylmethanes, 2-Benzylated Indoles, and 5,7-Dihydroindolo[2,3-*b*]carbazoles." *J. Org. Chem.*, 84, 12120-12130.

- Li, W. S., Yang, Y., Liu, J. J., Shen, L., Shi, Z., Wu, J. 2018. "Scaffold diversity-oriented synthesis of limonoid dimers: discovery of an axially chiral agent with in vivo anti-breast cancer activity." *Org. Chem. Front.*, 5(7), 1079-1091.
- Lim, N. K., Weiss, P., Li, B. X., McCulley, C. H., Hare, S. R., Bensema, B. L., Gosselin, F. 2017. "Synthesis of Highly Stereodefined Tetrasubstituted Acyclic All-Carbon Olefins via a Syn-Elimination Approach." *Org. Lett.*, 19, 6212-6215.
- M. Tuncbilek, E. Bilget T. Guven, R. Onder, C. Atalay. 2012. "Synthesis of Novel 6-(4-Substituted piperazine-1-yl)-9-(β -Dribofuranosyl)purine Derivatives, Which Lead to Senescence-Induced Cell Death in Liver Cancer Cells." *J. Med. Chem.*, 55, 3058–3065,
- Marrinucci, D., Bethel, K., Kolatkar, A., Luttgen, M. S., Malchiodi, M., Baehring, F., Ko, A. H. 2012. "Fluid biopsy in patients with metastatic prostate, pancreatic and breast cancers." *Phys. Biol.*, 9(1), 016003.
- Meenakshisundaram, S., Manickam, M., Pillaiyar, T. 2019. "Exploration of imidazole and imidazopyridine dimers as anticancer agents: Design, synthesis, and structure–activity relationship study." *Arch. Pharm.*, e1900011.
- Miller, R. B., and Al-Hassan, M. I. 1985. "Stereospecific synthesis of (*Z*)-tamoxifen via carbometallation of alkynylsilanes." *J. Org. Chem.*, 50(12), 2121-2123.
- Mohammed, H., D'Santos, C., Serandour, A. A., Ali, H. R., Brown, G. D., Atkins, A., Carroll, J. S. 2013. "Endogenous purification reveals GREB1 as a key estrogen receptor regulatory factor." *Cell Rep.*, 3(2), 342-349.
- Moradhaseli, S., Mirakabadi, A. Z., Sarzaem, A., Kamalzadeh, M., Hosseini, R. H. 2013. "Cytotoxicity of ICD-85 NPs on human cervical carcinoma HeLa cells through caspase-8 mediated pathway." *Iran J. Pharm. Res.*, 12(1), 155.
- Nayki, Ü., Nayki, C., Paşa, U., Gültekin, E., Emrah, T., Yıldırım, Y. 2014. "Tamoksifen ve Kadın Alt Genital Sistemi." *Clin. Obstet. Gynecol.*, 24(4), 227-233.
- Nguyen, D. X., and Massagué, J. 2007. "Genetic determinants of cancer metastasis." *Nat. Rev. Genet.*, 8(5), 341.
- Ogamino, T., Obata, R., Nishiyama, S. 2006. "Asymmetric synthesis of aerothionin, a marine dimeric spiroisoxazoline natural product, employing optically active spiroisoxazoline derivative." *Tetrahedron Lett.*, 47(5), 727-731.
- Paul, M. K., and Mukhopadhyay, A. K. 2004. "Tyrosine kinase–role and significance in cancer." *Int. J. Medical Sci.*, 1(2), 101.
- Pawson, T. 2002. "Regulation and targets of receptor tyrosine kinases." *Eur. J. Cancer*, 38, S3-S10.
- Pilli, R. A., and Robello, L. G. 2004. "Palladium-catalyzed double cross-coupling of E-vinylidic dibromides with PhZnCl and the synthesis of tamoxifen." *J. Braz. Chem. Soc.*, 15(6), 938-944.
- Pudata, V., Subrahmanyam, V., Jhansi, K. 2011. "A short note on Cancer." *J. Carcinog. Mutagen.*, 2(4), 1-6.
- Radhi, A. A., Ali, W. K., Al-Saedi, F. 2023. "Tamoxifen Citrate-loaded synthetic high-density lipoproteins: Assessment of cellular toxicity in breast cancer cells." *AJPS.*, 23(1), 58-67.
- Rohlenova, K., Sachaphibulkij, K., Stursa, J., Bezawork-Geleta, A., Blecha, J., Endaya, B., Neuzil, J. 2017. "Selective disruption of respiratory supercomplexes as a new strategy to suppress Her2high breast cancer." *Antioxid. Redox Signal.*, 26(2), 84-103.

- Saha Roy, S. and Vadlamudi, R. K. 2012. "Role of estrogen receptor signaling in breast cancer metastasis." *Int. J. Breast Cancer*, 2012.
- Shiina, I., Sano, Y., Nakata, K., Suzuki, M., Yokoyama, T., Sasaki, A., Hasome, Y. 2007. "An expeditious synthesis of tamoxifen, a representative SERM (selective estrogen receptor modulator), via the three-component coupling reaction among aromatic aldehyde, cinnamyltrimethylsilane, and β -chlorophenetole." *Bioorg. Med. Chem.*, 15, 7599-7617.
- Stüdemann, T., Ibrahim-Ouali, M., Knochel, P. 1998. "A nickel-catalyzed carbozincation of aryl-substituted alkynes." *Tetrahedron*, 54(7), 1299-1316.
- Tandon, N., Luxami, V., Tandon, R., Paul, K. 2020. "Recent advances in the synthesis of tamoxifen and analogues in medicinal chemistry." *Asian J. Org. Chem.*, 9(10), 1432-1465.
- Urruticoechea, A., Alemany, R., Balart, J., Villanueva, A., Vinals, F., Capella, G. 2010. "Recent advances in cancer therapy: an overview." *Curr. Pharm. Des.*, 16(1), 3-10.
- Villalona-Calero, M. A., Eder, J. P., Toppmeyer, D. L., Allen, L. F., Fram, R., Velagapudi, R., Kufe, D. W. 2001. "Phase I and pharmacokinetic study of LU79553, a DNA intercalating bisnaphthalimide, in patients with solid malignancies." *J. Clin. Oncol.*, 19(3), 857-869.
- Wang, X., and Studer, A. 2017. "Regio- and Stereoselective Radical Perfluoroalkyltriflation of Alkynes Using Phenyl (perfluoroalkyl) iodonium Triflates." *Org. Lett.*, 19(11), 2977-2980.
- Weiss, R. B., Sarosy, G., Clagett-Carr, K., Russo, M., Leyland-Jones, B. 1986. "Anthracycline analogs the past, present, and future." *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 18(3), 185-197.
- Welch, D. R., Rinker-Schaeffer, C. W. 1999. "What defines a useful marker of metastasis in human cancer?" *J. Natl. Cancer Inst.*, 91(16), 1351-1353.
- Xing, Y., Zhang, J., Wei, H., Zhang, H., Guan, Y., Wang, X., Tong, X. 2019. "Reduction of the PI3K/Akt related signaling activities in skeletal muscle tissues involves insulin resistance in intrauterine growth restriction rats with catch-up growth." *PLoS One*, 14(5), e0216665.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Berrak ERTUĞRUL
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Almanca:	
Rusça:	
Diğer:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	