

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FENİLBORONİK ASİT FONKSİYONELLİ N-HETEROSİKLİK KARBEN
ÖNCÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ali KURUÇAY

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

HAZİRAN 2022

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FENİLBORONİK ASİT FONKSİYONELLİ N-HETEROSİKLİK KARBEN
ÖNCÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ali KURUÇAY
36193613014

KİMYA ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

HAZİRAN 2022

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca bana her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan, bilgi ve deneyimleriyle akademik anlamda her zaman yeni bakış açıları kazandıran, sabırlı yardımlarıyla yeni deneysel çalışmalara imza atmamı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e,

Ve yine bu süreçte beni engin bilgi ve deneyimleriyle aydınlatarak çalışmalarına katkıda bulunan, her karşılaştığımda yeni bir bilgi öğreten ve zihnimde şimşekler çaktıran, motivasyonu hem akademik anlamda hem de hayatta izlemem gereken yollar hakkında benimle düşüncelerini sürekli paylaşan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Bilimsel yolculuğum süresince adeta kahrımı çeken ve bir abi gibi hem akademik anlamda hem de günlük yaşamda yardımına koşan, zamanında hayatımı kurtaran "Can" hocam Sayın Dr. Canbolat GÜRSES'e,

Sentez ve karakterizasyon basamaklarında büyük yardımları olan ve bana her basamağı usul usul sıkılmadan anlatan hocam Sayın Doç. Dr. Aydın AKTAŞ'a

Akademik desteğinin yanı sıra tecrübeleri ile yanlış seçimler yapmama engel olan Sayın Dr. Samir Abbas Ali NOMA'ya,

Hem evime hem laboratuvarında komşu olan tez çalışmalarımın analiz yardımlarıyla destek olan hocam İmren ÖZCAN'a,

Tezin uygulama aşamasında FYL-2020-2192 proje numarası ile bu Yüksek Lisans tezimi desteklediği için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve maddi destek sağlayarak araştırma sürecimde çalışmalarına katkıda bulunan Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu altındaki birim olan Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü'ne,

Tüm hayatım boyunca her konuda desteklerini gördüğüm, bugünlere gelmemi sağlayan canım annem Gül KURUÇAY'a, canım kardeşlerim Ömer KURUÇAY'a ve Osman KURUÇAY'a

Ve biricik sevdiğim Ezgi KARAASLAN'a

sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Fenilboronik Asit Fonksiyonelli *N*-Heterosiklik Karben Öncüllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Ali KURUÇAY



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ONUR SÖZÜ	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karbenler.....	3
2.1.1. Singlet Karben	3
2.1.2. Triplet Karben.....	3
2.1.3. N-Heterosiklik Karbenler	3
2.2. İmidazol Türevleri, Benzimidazol ve Kullanım Alanları	4
2.2.1. Benzimidazoller	4
2.2.2. Diğer İmidazol Yapıları ve Kullanıldığı Alanlar.....	4
2.3. Bor Elementi ve Boronik Asit.....	8
2.3.1. Boronik Asit İçeren İlaç Çeşitleri	9
2.4. Biyolojik Aktivite Hedefleri	15
2.4.1. Hücre Apoptozu ve Enzim İnhibisyonu	16
2.4.2 DNA Mutasyonları	17
2.4.3 Reaktif Oksijen Üretimi	17
2.5. Biyolojik Aktivite Testleri	18
2.5.1. Sitotoksisite ve Genotoksisite Testleri	18
2.5.2. Antibakteriyel Testler	19
2.5.3. Enzim İnhibisyonu Testleri	21
3. MATERYAL METHOD.....	24
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.2 Kullanılan Cihazlar ve Yazılımlar	24
3.3 Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Karben Tuzlarının Sentezi.....	25
3.3.1. <i>1-(3-boronobenzil)-3-metilbenzimidazolyum bromür</i>	25
3.3.2. <i>1-(3-boronobenzil)-3-etilbenzimidazolyum bromür</i>	25
3.3.3. <i>1-(3-boronobenzil)-3-benzilbenzimidazolyum bromür</i>	26
3.3.4. <i>1-(3-boronobenzil)-3-(4-metilbenzil)benzimidazolyum bromür</i>	26
3.3.5. <i>1-(3-boronobenzil)-3-(2,4,6-trimetilbenzil)benzimidazolyum bromür</i>	27
3.3.6. <i>1-(3-boronobenzil)-3-(2,3,5,6-tetrametilbenzil)benzimidazolyum bromür</i>	27

3.4 Boronik Asit Fonksiyonel NHC Karben Öncüllü Tuzların Karakterizasyonu	28
3.4.1 Erime Noktasının Belirlenmesi	28
3.4.2. Kızılötesi Spektrumu (FTIR) Ölçümü.....	28
3.4.3. NMR Ölçümü	28
3.5. <i>In Vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC öncüllerini Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi.....	28
3.5.1. MTT Testi.....	29
3.6. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi	30
3.7. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Genotoksisite Özelliklerinin Belirlenmesi	30
3.8. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Enzim İnhibisyon Özelliklerinin Belirlenmesi	31
3.8.1. Ksantin Oksidaz İnhibisyonu	31
3.8.2. Asetilkolinesteraz İnhibisyonu	31
4.ARAŞTIRMA BULGULARI	33
4.1. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin Yapısal Karakterizasyonu	33
4.1.1. 1a Tuzunun Karakterizasyonu	33
4.1.2. 1b Tuzunun Karakterizasyonu.....	35
4.1.3. 1c Tuzunun Karakterizasyonu	36
4.1.4. 1d Tuzunun Karakterizasyonu.....	37
4.1.5. 1e Tuzunun Karakterizasyonu	39
4.1.6. 1f Tuzunun Karakterizasyonu	40
4.2. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi	41
4.2.1. MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerinde Etkisi	41
4.2.2. A549 Hücre Hattı Üzerinde Etkisi	49
4.2.3. HCT116 Hücre Hattı Üzerinde Etkisi	56
4.3. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi	63
4.3.1. <i>Bacillus subtilis</i> bakterisi üzerinde tuzların etkisi.....	63
4.3.2. <i>Escherichia coli</i> Bakterisi Üzerinde Benzimidazolyum Tuzlarının Etkisi.....	64
4.4. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Genotoksisite Özelliklerinin Belirlenmesi	65
4.5. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin <i>in vitro</i> Sistemde Enzim İnhibisyon Özelliklerinin Belirlenmesi	66
4.5.1. Ksantin Oksidaz Enzimi Üzerinde Etkisi	66
4.5.2. Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerinde Etkisi.....	67

5.TARTIŞMA.....	69
KAYNAKÇALAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	82



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.2. 1. İmidazol bileşiği temel yapısı	4
Şekil 2.2.1. 1. Benzimidazol bileşiği temel yapısı	4
Şekil 2.2.2. 1. Lepidilin A bileşiğinin yapısı	5
Şekil 2.2.2. 2. Lepidilin B bileşiğinin yapısı	5
Şekil 2.2.2. 3. Metronidazol bileşiğinin yapısı	5
Şekil 2.2.2. 4. Klotrimazol bileşiğinin yapısı	6
Şekil 2.2.2. 5. Dakarbazin bileşiğinin yapısı	6
Şekil 2.2.2. 6. Azatıyoprin bileşiğinin yapısı	7
Şekil 2.2.2. 7. Zoledronik Asit bileşiğinin yapısı	7
Şekil 2.2.2. 8. Tipifarnib bileşiğinin yapısı	8
Şekil 2.3.1. 1. Boromisin bileşiğinin yapısı	9
Şekil 2.3.1. 2. Aplasmomisin bileşiğinin yapısı	10
Şekil 2.3.1. 3. Bortezomib bileşiğinin yapısı	11
Şekil 2.3.1. 4. İxazomib bileşiğinin yapısı	11
Şekil 2.3.1. 5. Tavaborol bileşiğinin yapısı	12
Şekil 2.3.1. 6. Krisaborol bileşiğinin yapısı	13
Şekil 2.3.1. 7. Vaborbaktam bileşiğinin yapısı	13
Şekil 2.3.1. 8. GSK3036656 bileşiğinin yapısı	14
Şekil 2.3.1. 9. GSK2878175 bileşiğinin yapısı	15
Şekil 2.4.2.1. 1 Disk Difüzyon Metodunda İnhibisyon Varlığının Anlaşılması	20
Şekil 2.4.2.2. 1. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre zarı farkları.	21
Şekil 3.3.1. 1. 1a Tuzunun moleküler yapısı	25
Şekil 3.3.2. 1. 1b Tuzunun moleküler yapısı	26
Şekil 3.3.3. 1. 1c Tuzunun moleküler yapısı	26
Şekil 3.3.4. 1. 1d Tuzunun moleküler yapısı	27
Şekil 3.3.5. 1. 1e Tuzunun moleküler yapısı	27
Şekil 3.3.6. 1. 1f Tuzunun moleküler yapısı	28
Şekil 4.1.1. 1. 1a Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	34
Şekil 4.1.1. 2. 1a Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	34
Şekil 4.1.1. 3. 1a Tuzunun FTIR grafiği	34
Şekil 4.1.2. 1. 1b Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	35
Şekil 4.1.2. 2. 1b Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	35
Şekil 4.1.2. 3. 1b Tuzunun FTIR grafiği	36
Şekil 4.1.3. 1. 1c Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	36
Şekil 4.1.3. 2. 1c Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	37
Şekil 4.1.3. 3. 1c Tuzunun FTIR grafiği	37
Şekil 4.1.4. 1. 1d Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	38
Şekil 4.1.4. 2. 1d Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	38
Şekil 4.1.4. 3. 1d Tuzunun FTIR grafiği	38
Şekil 4.1.5. 1. 1e Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	39
Şekil 4.1.5. 2. 1e Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	39
Şekil 4.1.5. 3. 1e Tuzunun FTIR grafiği	40
Şekil 4.1.6. 1. 1f Tuzunun Proton (¹ H) NMR grafiği	40
Şekil 4.1.6. 2. 1f Tuzunun Karbon (¹³ C) NMR grafiği	41
Şekil 4.1.6. 3. 1f Tuzunun FTIR grafiği	41
Şekil 4.2.1. 1. Tuzların MCF-7 hücre hattı üzerinde IC50 (µg/mL) değerleri	42
Şekil 4.2.1. 2 1a tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri	43

Şekil 4.2.1. 3 1b	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	44
Şekil 4.2.1. 4 1c	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	45
Şekil 4.2.1. 5 1d	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	46
Şekil 4.2.1. 6 1e	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	47
Şekil 4.2.1. 7 1f	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	48
Şekil 4.2.2. 1	Tuzların A549 hücre hattı üzerinde IC50 (µg/mL) değerleri.....	49
Şekil 4.2.2. 2 1a	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	50
Şekil 4.2.2. 3 1b	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	51
Şekil 4.2.2. 4 1c	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	52
Şekil 4.2.2. 5 1d	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	53
Şekil 4.2.2. 6 1e	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	54
Şekil 4.2.2. 7 1f	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	55
Şekil 4.2.3. 1	Tuzların HCT116 hücre hattı üzerinde IC50 (µg/mL) değerleri.....	56
Şekil 4.2.3. 2 1a	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	57
Şekil 4.2.3. 3 1b	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	58
Şekil 4.2.3. 4 1c	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	59
Şekil 4.2.3. 5 1d	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	60
Şekil 4.2.3. 6 1e	tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	61

Şekil 4.2.3. 7 1f tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.....	62
Şekil 4.2. 1. N-Heterosiklik karben öncüllerinin ve kanser ilacı olan cisplatin ilacının meme, akciğer ve kolorektal kanserler üzerindeki etkisi.....	63
Şekil 4.3.1. 1. Zon çapı ölçümü ile <i>B. subtilis</i> bakterisinin zon çapı ölçüm sonuçları.....	64
Şekil 4.3.2. 1. Zon çapı ölçümü ile <i>E. coli</i> bakterisinin zon çapı ölçüm sonuçları	64
Şekil 4.4. 1. pBR322 plazmiti ile tuzların etkileşiminin agaroz jel ile görüntüleri.....	65
Şekil 4.5.1. 2. Asetilkolinesteraz enziminin fenilboronik asit fonksiyonelli n-heterosiklik karben öncülleri ile inhibisyonunun değerler grafiği.	67
Şekil 4.5.2. 2. Asetilkolinesteraz enziminin fenilboronik asit fonksiyonelli n-heterosiklik karben öncülleri ile inhibisyonunun değerler grafiği.	68



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.5.1. 2. Ksantin Oksidaz enziminin fenilboronik asit fonksiyonelli n-heterosiklik karbon öncülleri ile inhibisyonunun ($\mu\text{g}/\text{mL}$) cinsinden değerleri.....	66
Çizelge 4.5.2. 2. Asetilkolinesteraz enziminin fenilboronik asit fonksiyonelli n-heterosiklik karbon öncülleri ile inhibisyonunun ($\mu\text{g}/\text{mL}$) cinsinden değerleri.....	68



SEMBOLLER VE KISALTMALAR

- 1a** : 1-(3-boronobenzil)-3-metilbenzimidazolyum bromür
1b : 1-(3-boronobenzil)-3-etilbenzimidazolyum bromür
1c : 1-(3-boronobenzil)-3-benzilbenzimidazolyum bromür
1d : 1-(3-boronobenzil)-3-(4-metilbenzil)benzimidazolyum bromür
1e : 1-(3-boronobenzil)-3-(2,4,6-trimetilbenzil)benzimidazolyum bromür
1f : 1-(3-boronobenzil)-3-(2,3,5,6-tetrametilbenzil)benzimidazolyum bromür
- DMSO** : Dimetil Sülfoksit
FTIR : Fourier Transform Infrared Spektroskopi
H₂O₂ : Hidrojen Peroksit
PBS : Fosfat Tampon Çözeltisi
EtBr : Etidyum Bromür
MTT : 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür
FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium
FBS : Fetal Bovine Serum
HMA : Yüksek Erime Dereceli Agaroz
TAE : Tris Asetat EDTA
LB : Luria Bertani Besiyeri
EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
RPM : Dakikada Devir Sayısı
NHC : *N*-Heterosiklik Karben
e.n. : Erime Noktası
NMR : Nükleer Manyetik Rezonans
°C : Celcius
µg : Mikrogram
µL : Mikrolitre
MCF-7: *Homo sapiens* Meme Kanseri Hücresi
A549 : *Homo sapiens* Epitel Akciğer Kanseri Hücresi
HCT116: *Homo sapiens* Kalınbağırsak Kanseri Hücresi
BS : *Bacillus subtilis*
EC : *Escherichia coli*
Cis : Cisplatin

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FENİLBORONİK ASİT FONKSİYONELLİ *N*-HETEROSİKLİK KARBEN ÖNCÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Ali KURUÇAY

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

83 + xii Sayfa

2022

Danışman: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

N-heterosiklik karbenler (NHC), singlet karbenlerden oluşan ve içerisinde azot atomu bulunduran heterosiklik bileşiklerdir. Bu tezde boronik asit fonksiyonel grubu içeren benzimidazolyum tuzlarının sentezi, karakterizasyonu, antikanser, genotoksisite, antibakteriyel ve enzim inhibisyonu özellikleri araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında meta-fenilboronik asit süstitüentli benzimidazolyum tuzları (**1a-f**) sentezlenmiştir. Sentezlenen tuzların MCF-7 Hücre Hattı üzerinde **1a-f** tuzlarının ve cisplatin ilacı için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 37.40±1.70, 54.17±2.77, 29.57±3.04, 32.27±4.24, 29.90±2.89, 38.97±2.44 ve 82.02±6.19 olarak bulunmuştur. A549 Hücre Hattı üzerinde ise **1a-f** tuzlarının ve cisplatin için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 38.83±3.17, 51.17±5.84, 17.14±3.72, 31.86±3.53, 29.24±2.86, 24.18±3.99 ve 91.31±3.65 olarak tespit edilmiştir. HCT116 Hücre Hattı için **1a-f** tuzlarının ve cisplatin için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 29.20±2.33, 52.78±2.22, 34.29±1.97, 30.42±4.52, 15.31±3.81, 36.04±1.38 ve 106.57±6.77 olarak bulunmuştur. Genotoksik çalışmalarda pBR322 plazmiti üzerinde artan konsantrasyona rağmen bir etkisi görülmemiştir. *B. subtilis* ve *E. coli* bakterilerinde standart antibiyotiklerle karşılaştırılabilir düzey öldürücü etki göstermemiştir. Enzim inhibisyonu testinde **1a-f** tuzlarının ve allopurinol için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 1.062±0.038, 1.226±0.021, 0.761±0.024, 0.811±0.033, 0.637±0.011, 0.591±0.016 ve 1.685±0.051 olarak bulunmuş olup ksantin oksidaz enzimine allopurinolden daha fazla inhibisyon etkisinin olabileceği tespit edilmiştir. Asetilkolinesteraz enzimine ise donepezilden daha fazla inhibisyon özelliği göstermiş ve bu değerler **1a-f** tuzlarının ve donepezil ilacı için IC₅₀ µg/mL değeri sırasıyla 0.861±0.045, 1.088±0.049, 0.976±0.058, 0.862±0.033, 0.903±0.011, 1.029±0.089 ve 3.172±0.661 olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak boronik asit fonksiyonelli NHC öncüllerinin biyolojik olarak aktif bileşikler olduğu ve özellikle enzim inhibisyonları yolu ile hücreler üzerinde biyolojik olarak aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antikanser, Fenilboronik Asit, Enzim inhibisyonu, Genotoksisite, NHC

ABSTRACT

Master Thesis

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF PHENYLBORONIC ACID FUNCTIONALIZED *N*-HETEROCYCLIC CARBENE PRECURSORS

Ali KURUÇAY

Inonu University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

83 + xii pages

2022

Supervisor: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

N-heterocyclic carbenes (NHC) are heterocyclic compounds consisting of singlet carbenes and containing nitrogen atoms. In this thesis, the synthesis, characterization, determination of anticancer, genotoxicity, antibacterial and enzyme inhibition properties of benzimidazolium salts bearing phenylboronic acid functional group were investigated.

Within the scope of the study, benzimidazolium salts (**1a-f**) with meta-phenylboronic acid substituted were synthesized. The IC₅₀ µg/mL values of the synthesized for the **1a-f** salts on the breast cancer cell line MCF-7 and for the cisplatin drug were measured 37.40±1.70, 54.17±2.77, 29.57±3.04, 32.27±4.24, 29.90±2.89, 38.97±2.44 and 82.02±6.19, respectively. On the lung cancer cell line A549, the IC₅₀ µg/mL values of **1a-f** salts and cisplatin were determined as 38.83±3.17, 51.17±5.84, 17.14±3.72, 31.86±3.53, 29.24±2.86, 24.18±3.99 and 91.31±3.65, respectively. The IC₅₀ µg/mL values of salts **1a-f** for colon cancer HCT116 cell line and for cisplatin were 29.20±2.33, 52.78±2.22, 34.29±1.97, 30.42±4.52, 15.31±3.81, 36.04±1.38 and 106.57±6.77, respectively. In genotoxic studies, no effect was observed on the pBR322 plasmid despite increasing concentration. It did not show comparable effect with standard antibiotic on *B. subtilis* and *E. coli* bacteria. In the enzyme inhibition test, the IC₅₀ µg/mL values of salts **1a-f** and for allopurinol were found as 1.062±0.038, 1.226±0.021, 0.761±0.024, 0.811±0.033, 0.637±0.011, 0.591±0.016 and 1.685±0.051, respectively. It showed more inhibition of acetylcholine esterase enzyme than donepezil, and these values of IC₅₀ µg/mL for **1a-f** salts and donepezil drug were 0.861±0.045, 1.088±0.049, 0.976±0.058, 0.862±0.033, 0.903±0.011, 1.029±0.089 and 3.172±0.661, respectively.

As a result, it has been determined that phenylboronic acid functionalized NHC precursors are biologically active compounds and exhibit biological activity on cells, especially through enzyme inhibitions.

Keywords: Anticancer, Phenylboronic Acid, Enzyme Inhibition, Genotoxicity, NHC

1. GİRİŞ

NHC'ler son yıllarda biyolojik aktivitesi ile dikkat çeken önemli yapılardır. NHC-metal komplekslerinin fenilboronik asit işlevsel grupla farklı sübtitüentlerle sentezlenmesi ve biyolojik özelliklerin incelenerek ilaç etken maddesi olabilecek yapıların ortaya konması çalışmanın konusunu oluşturmaktadır. NHC'ler her bir azot atomu üzerinde iki tane sübtitüent ile oluşturduğu wingtip (kanat ucu) tipi imidazol iskeletine sahiptir. Koni biçimli fosfinlerle karşılaştırıldığında çoğu NHC (planar), kama şeklinde düzlemseldir. Fosfin komplekslerinde, ligand düzleminin aşağı ve yukarısındaki metalin sterik olarak korunması bazen yetersizdir. Fakat imidazol halkası üzerindeki hacimli sübtitüentler önemli ölçüde NHC'nin sterik hacmini artırabilmektedir.

İlaç etken maddesi özelliğine sahip moleküllerin sentezi her geçen gün artarak devam eden bir çalışma alanıdır. Bu anlamda NHC öncülleri ve onların metal kompleksleri yoğun ilgi görmektedir. Ayrıca ülkemizden bol miktarda çıkarılan oldukça önemli bir element olan bor elementi türevlerinin birçok alanda uygulanması kapsamında bor türevli bileşiklerinin biyolojik aktivitelerinin detaylı incelenmesi fayda sağlayabilmektedir. Bilimsel yayınlardan destekle boronik asit fonksiyonel uca sahip metal-NHC kompleksleri ve bunların biyolojik uygulamaları oldukça kısıtlı çalışılmıştır. NHC'ler, singlet karbenlerden oluşan ve içerisinde azot atomu bulunduran heterosiklik bileşiklerdir. NHC'ler elektronik ve sterik olarak ayarlanabildiğinden periyodik tabloda yer alan geçiş metallerinin neredeyse tamamı ile kompleks oluşturabilmektedirler. NHC'lerin sentez kolaylığı, işlevselleştirilmesi, izolasyonunun basitliği ve çok çeşitli sert/yumuşak metal iyonlarıyla kompleksleşmesindeki başarısı, NHC'lerinin önemini artırmaktadır. Ayrıca metal-NHC komplekslerinin medikal uygulamaları son yıllarda önemli ilgi odağı haline gelmiştir. Medikal önemi mevcut ilaç etken maddesi olabilecek komplekslerin sentezi ve biyolojik özelliklerinin ortaya konması ilaç geliştirme çalışmaları açısından büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda biyolojik etkinliği yüksek ve yan etkileri düşük ilaçların geliştirilmesi hala çok önemli bir çalışma alanıdır. Bu nedenle, çalışmada son yıllarda biyolojik aktivitesi ile dikkat çeken NHC-metal komplekslerinin fenilboronik asit fonksiyonel gruplu bileşiklerin sentezlenmesi ve ayrıntılı biyolojik özelliklerinin incelenmesi asıl amacımızı oluşturmaktadır.

İlaç keşfi açısından, boronik asitlerin tıbbi kimya çabalarına dahil edilmesi, son yıllarda istikrarlı bir artış göstermiştir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Kanada Sağlık Bakanlığı şimdiye kadar, üçü son dört yılda onaylanmış olmakla beraber, diğer ilaçlar ise

klirik deneylerde olan beş boronik asit ilacını onaylamıştır. Boronik asitler, potansiyel olarak ilaçların potansiyelini arttırmak ve farmakokinetik profillerini geliştirmek dahil olmak üzere artan kullanımlarına yol açan birkaç arzu edilen özelliğe sahiptir. Bu çalışma, boronik asit ilaçlarının keşif süreçlerine katkı sağlamaktadır. Doğal ürünlerde ve mevcut ilaçlarda kısa bir bor kapsamı ile başlar, ardından boronik asit katılımı için çeşitli rasyonalizasyonlar ve bunların organik bileşiklere eklenmesini kolaylaştırmaya odaklanan sentetik gelişmeler üzerine bir araştırma yapılır.

Bu çalışmada, ilaç etken maddesi olma özelliği taşıyabilecek meta-fenilboronik asit sübstitüentli benzimidazolyum tuzlarının (**1a-f**) sentezi ve ¹H NMR, ¹³C NMR ve FTIR ile karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bileşiklerin detaylı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi için; enzim inhibisyon kapsamında ksantin oksidaz ve asetilkolin esteraz enzimleri, DNA etkileşim özelliklerinin belirlenmesi kapsamında elektroforetik yöntem, antikanser özelliklerinin belirlenmesi için MTT testi ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi için ise disk difüzyon metotları kullanılmıştır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ülkemiz açısından önemli olan bor türevli ilaç etken madde özelliğine sahip bileşiklerin ortaya konması açısından oldukça önemli olacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karbenler

Değerlik kabuğunda altı elektron bulunduran karbon atomuyla, iki radikal gruba kovalent bağ ile bağlanan nötral türlere karben denir. Karbenler yüksek enerjili, reaktif ve kısa ömürlü ara ürünlerdir. Temel halde iki farklı spinli, iki tür karben bulunmaktadır. Bunlar singlet ve triplet karbenlerdir (Matzingerand ve diğ., 1995). Bu radikal gruplara bağlanacak ligandların çeşitlerine göre singlet veya triplet yapılara dönüşebilirler. Örneğin radikal gruplara azot, oksijen veya kükürt atomlarının bağlanmalarıyla singlet yapı oluşurken, yapısı C_nH_{2n+1} olan alkil gibi ligandlar bağlanmasıyla triplet yapılar oluşur.

2.1.1. Singlet Karben

Singlet karben, merkez atomu olan karbonun iki boş p orbitalinin herhangi birinde iki elektronun ters spinli yerleşmesiyle oluşan karben türüne denir. Bu karbenler sp^2 hibritleşmesi yaparak üçgen geometriye sahiptirler.

2.1.2. Triplet Karben

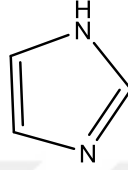
Triplet karben, merkez atomu olan karbonun iki boş p orbitalinde iki elektronun aynı spinde yerleşmesiyle oluşan karben türüne denir. Bu karbenler sp hibritleşmesi yaparak doğrusal geometriye sahiptirler.

2.1.3. N-Heterosiklik Karbenler

Heterosiklik, halkasal yapıdaki organik bir bileşiğin en az bir atomunun azot, oksijen veya kükürt gibi karbon dışında bir atomu içermesiyle oluşan duruma denir. Böyle bileşiklerde azot atomları bulunursa NHC'ler- oluşmaktadır. NHC'lerde bulunan karben karbon atomuna bağlı iki azot atomu üzerindeki birer elektron çifti karben karbon atomunun boş p orbitaline geçerek, karben karbon atomunun elektron kararlılığını tamamlayarak daha kararlı bir hale getirir. NHC'ler bu sebeple diğer karbenlere göre daha stabildir. Metallerle kompleks oluşturma özellikleri oldukça yüksektir. NHC'ler; karben karbonunun radikal bölgelerine bağlı olan azot atomları ile iki tane sigma bağı yapmış ve sp^2 orbitalinde bir elektron çiftinin sp^2 hibritleşmesine uğramış karben yapılarıdır (Nyulaszi ve diğ., 1998).

2.2. İmidazol Türevleri, Benzimidazol ve Kullanım Alanları

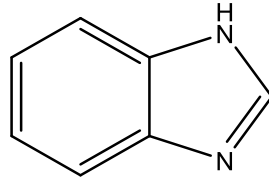
İmidazol, $C_3N_2H_4$ formülüne sahip organik halkasal bir bileşiktir. Suda çözünür, hafif alkali bir çözelti üreten beyaz veya renksiz bir katıdır. Bu halka sistemi, histamin gibi önemli biyolojik yapı taşlarında bulunur. Bazı antifungal ilaçlar, nitroimidazol serisi antibiyotikler ve yatıştırıcı gibi birçok ilaç imidazol halkası içerir. Bir pirimidin halkasına kaynaştığında, doğada en sık karşılaşılmış nitrojen içeren heterosiklik olan bir pürini oluşturur. "İmidazol" ismi, 1887 yılında Alman kimyager Arthur Rudolf Hantzsch tarafından bu yapıya verilmiştir.



Şekil 2.2. 1: İmidazol bileşiği temel yapısı

2.2.1. Benzimidazoller

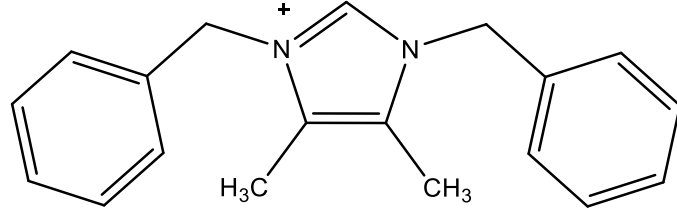
Benzimidazoller imidazol bileşiklerine benzen halkasının azotlardan uzak konumdaki çift bağı kırılmasıyla bağlanarak oluşur. Bu aromatik yapı insan sağlığı çalışmalarında sıkça gündeme gelmiş olup antikanser çalışmalarında sıkça kullanılmıştır. Literatürde benzimidazol bileşiğinin antikanser çalışmaları bulunmakla birlikte çeşitli karben öncülleri, tuzları ve kompleksleri ile çok sayıda literatüre çalışma katmıştır.



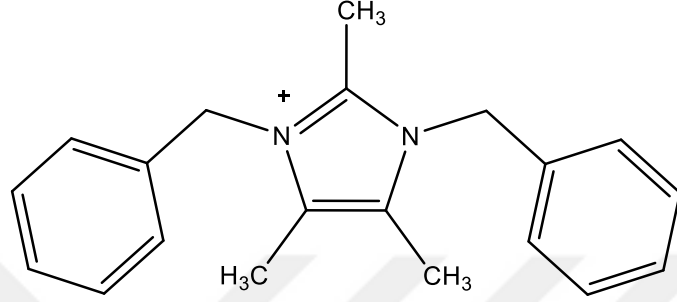
Şekil 2.2.1. 1: Benzimidazol bileşiği temel yapısı

2.2.2. Diğer İmidazol Yapıları ve Kullanıldığı Alanlar

Heterosiklik bileşikler yapıları bakımından, fiziksel, kimyasal ve farklı biyolojik özellikleri olan zengin çeşitli yapılardır. (Balaban ve diğ., 2004). Biyokimyada, biyolojik olarak aktif ilaçların tasarlanmasında, ana iskelet olarak sıkça kullanılmaktadır (Neochoritis ve diğ., 2008). Bir heterosiklik bileşik yapısında olan imidazol, biyolojik olarak aktif olarak bilinen birçok kimyasal yapıda bulunur (Blakeney ve diğ., 2007). İmidazol, ilaç tasarlamada aktiviteden sorumlu temel yapı olarak düşünülür ve türevlendirilir (Xu ve diğ., 2006.)

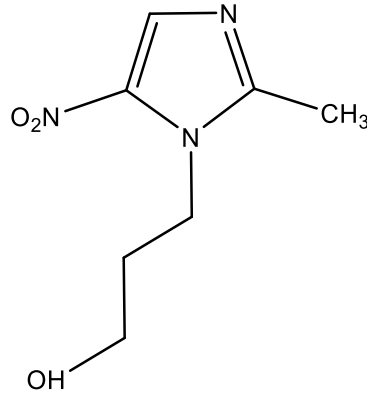


Şekil 2.2.2. 1: Lepidilin A bileşiminin yapısı



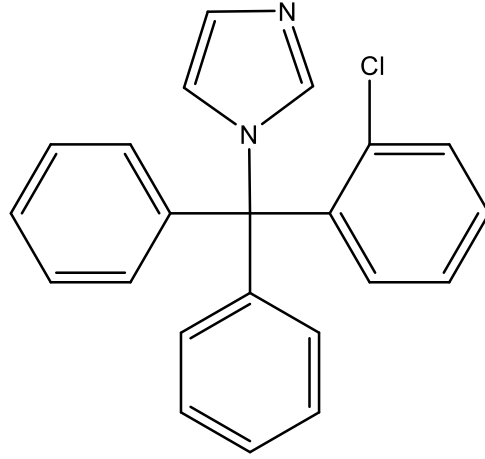
Şekil 2.2.2. 2: Lepidilin B bileşiminin yapısı

Lepidilin A ve B gibi büyük gruplar taşıyan imidazoller birçok insan kanser hücre tipine karşı mikromolar düzeyde sitotoksikite gösterir (Cui ve diğ., 2003). *Lepidium meyenii* bitkisinden sıkça elde edilebilen, imidazol yapısı içermekle birlikte mesane kanseri üzerine yapılan çalışmalarda etkili rol oynamıştır (Korkmaz ve Bilal, 2014).



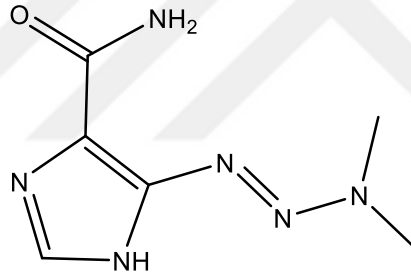
Şekil 2.2.2. 3: Metronidazol bileşiminin yapısı

Metronidazol antimikrobiyal aktivitesi ile sıkça kullanılması yansira uzun süreli kullanımlarında mutajenik etki göstermesiyle bilinir. Bu mutajenik etkinin kansere yol açtığı üzerine çalışmalar yapılmaktadır. İleri düzey bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılmaktadır (Trujillo ve diğ., 1989).



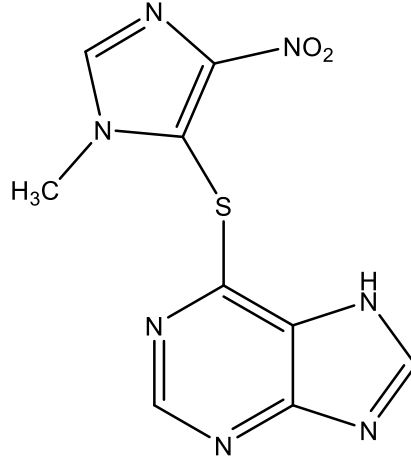
Şekil 2.2.2. 4: Klotrimazol bileşiminin yapısı

Klotrimazol, mantar önleyici antifungal bir ilaçtır. Vajinal mantar enfeksiyonları, oral pamukçuk, ayak mantarı ve kasık mantarı dahil olmak üzere saç dökülmelerine sebep olan saçkıran türlerini tedavi etmek için kullanılır. Oral yoldan alınabileceği gibi krem olarak sürülebilir. Bu imidazol çeşidi mantarın hücre zarı yapısını bozarak çalışır (Zancan ve diğ., 2007).



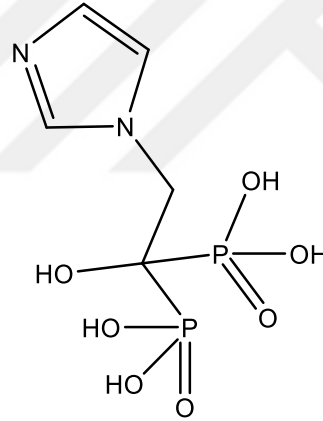
Şekil 2.2.2. 5: Dakarbazin bileşiminin yapısı

Dakarbazin, kemoterapi ilacıdır. Metastatik kanser hücrelerinin bölünme sırasında, DNA'nın metillenmiş bölgelerini birbirine bağlayarak hücrenin bölünmesini önlemekle birlikte ölümünü de kolaylaştırır. Yan etkileri olmakla birlikte sağlıklı hücrelerin bölünmesini de önlemektedir. Fakat kanser hücreleri sağlıklı hücrelerden daha hızlı bölünme geçirdiklerinden metillenmiş DNA bölgelerinin ortaya çıkması ve yapışması daha sık olmaktadır (Fazeny-Dörner ve diğ., 2003).



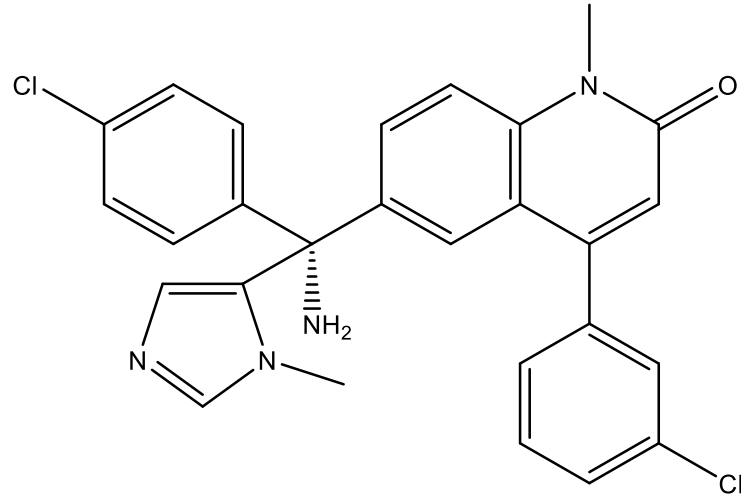
Şekil 2.2.2. 6: Azatiyoprin bileşiğinin yapısı

Azatioprin, bağışıklık sistemini baskılayan bir ilaçtır. Romatoid artrit, polianjiitli granülomatoz, Crohn hastalığı, ülseratif kolit ve sistemik lupus eritematozus ve böbrek nakilleri gibi organ nakillerinde vücudun organı kabul etmesi için kullanılır. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı tarafından 1. grup kanserojen (insanlar için kanserojen) olarak listelenmiştir. Oral yoldan veya damar içine enjekte ederek uygulanabilir (Krezel, 1998).



Şekil 2.2.2. 7: Zoledronik Asit bileşiğinin yapısı

Zoledronik Asit, kemik hastalıklarında sıkça kullanılmaktadır. Bunlara osteoporoz, kansere bağlı yüksek kan kalsiyumu, kansere bağlı kemik yıkımı, paget kemik hastalığı ve Duchenne kas distrofisi (DMD) dahildir. Böbrek sorunlarına yol açmaktadır. Kemik hücrelerini parçalayan osteokast hücrelerinin inhibe edilmesiyle kemik hasarını önler. Damar içine enjeksiyon yoluyla verilir (Kotteas ve diğ., 2008) .



Şekil 2.2.2. 8: Tipifarnib bileşğinin yapısı

Tipifarnib bir farnesiltransferaz inhibitörüdür. Farnesiltransferaz inhibitörleri, CAAX kuyruk motifinin prenilasyonunu inhibe ederek farnesiltransferaz enziminin aktivitesini bloke eder, bu da sonuçta RAS'ın zara bağlanması engelleyerek onu inaktif hale getirir (Haluska ve diğ., 2002; Perez-Ruixo ve diğ., 2006).

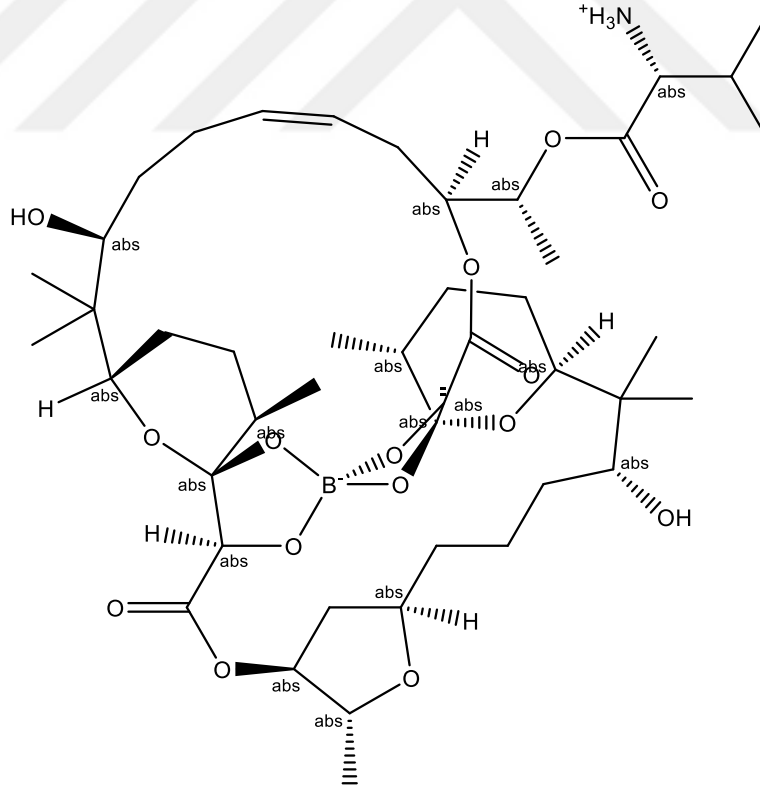
2.3. Bor Elementi ve Boronik Asit

Bor elementine adını birçok dilde benzer olan; Arapça Burak veya Farsça Burah dillerinden geldiği düşünülmektedir. Babilliler bor elementini simyada kullanmışlardır. Yunanlılar temizlik maddesi olarak kullanmış olup Araplar ilaç olarak tüketmişlerdir.

Boronik asitler merkez atomunda bir bor elementi olan iki hidroksi ve bir radikal grup barındıran asitlere denilmektedir. Boronik asitler, bor atomunun boş orbitalinden dolayı zayıf asit özelliği göstermektedir. Bu özellik boronik asiti biyolojik olarak çekici kılmaktadır. Boronik asitin tıpta, kimyada ve birçok alanda kullanımı vardır. Ayrıca bozunma sonucu çıkan ürün orto borik asit olup doğaya zararı bulunmamaktadır. Suda çözünebilen boronik asitin toksik etkisi bilinmekle birlikte düşük miktarı vücuttan idrar ile atılmaktadır. İlk boronik asit içeren kemoterapi ilacı Velcade ismi ile piyasaya çıkmış etken maddesi Bortezomib'tir. Bor türevli diğer bileşikler ise üç radikal gruba sahip olan boran, iki radikal gruba sahip olan borinik asit, üç hidroksi grubuna sahip olan borik asit, dört radikal gruba sahip olup eksi yükle yüklenmiş olan tetraborat, boronik asitte bulunan hidroksilerin hidrojenlerinin yerine radikal grup bağlanmasıyla boronik ester ve oksijen ve bor elementlerinin üçerli şekilde halkasal yapıda bağlanıp bor elementine bağlı üç radikal grubun bağlanmasına siklik boronik anhidrit adı verilir (Moseman, 1994).

2.3.1. Boronik Asit İçeren İlaç Çeşitleri

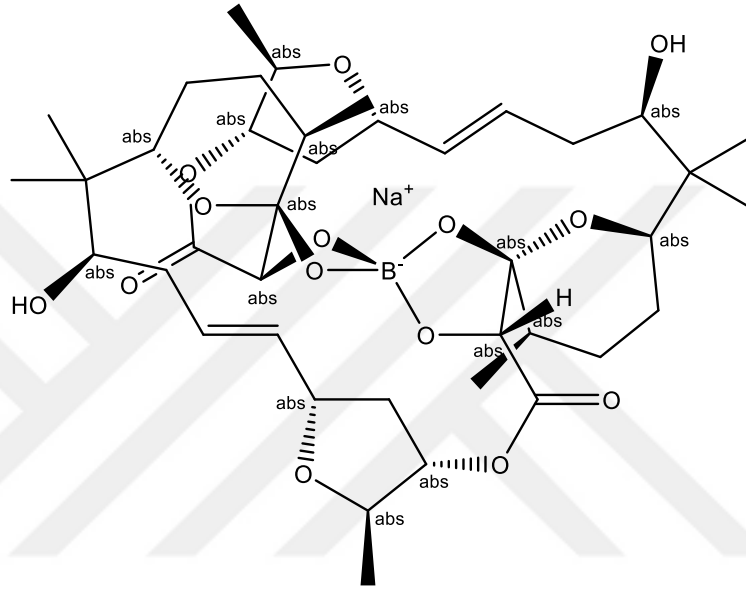
Boronik asit içeren bileşiklerin çok yönlü olması onu medikal alanda uygulama için en çok çalışma yapılan fonksiyonel gruplardan birisi yapmıştır. Günümüzde boronik asit içeren ilaç türleri mevcuttur. Boronik asit içeren borteomib ve ixazomib, antikanser çalışmalarında kullanılmaktadır (Richardson, ve diğ., 2008; Kumar, ve diğ., 2017). Boronik asit antibakteriyel ilaçların geliştirilmesinde de yer almıştır. Boromisin, Vaborbaktam ve GSK3036656 bileşikler antibakteriyel alanda bilinen boronik asit içeren bileşiklerdir (Chen, ve diğ., 1981; Tenero, ve diğ., 2019; Lee, ve diğ., 2019). Sıtma ilacı olarak etki gösteren aplasmomisin, boronik asit içeren bir anti plazmodyum ilaç türüdür. Antifungal özellik gösteren tavaborol bileşiği ise son yıllarda mantar kökenli enfeksiyonların tedavilerinde kullanılmaktadır (Jinna, ve diğ., 2015). Antikanser özelliği ile de bilinen Boromisin ile GSK2878175 bileşiğinin antiviral özelliğinin de olduğu görülmüş olup faz çalışmaları devam etmektedir (Chong, ve diğ., 2019). Çeşitli hastalıkların yan etkisi olan inflamasyonun (iltihaplanma) tedavisinde krisaborol bileşiği kullanılmaktadır (Livermore, ve diğ., 2013).



Şekil 2.3.1. 1. Boromisin bileşiğinin yapısı

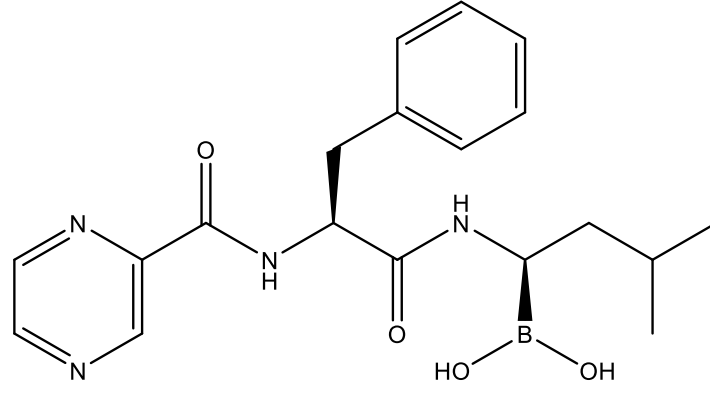
Boromisin, bakteriyosidal bir polieter-makrolid antibiyotiktir. Başlangıçta *Streptomyces antibioticus*'tan izole edildi ve bor elementini içerdiği bulunan ilk doğal ürün

olmasıyla dikkat çekmektedir (Chen, ve diğ., 1981). Çoğu Gram pozitif bakteriye karşı etkilidir, ancak Gram negatif bakterilere karşı etkisizdir. Boromisin, sitoplazmik membranı olumsuz etkileyerek bakterileri öldürür ve hücreden potasyum iyonlarının kaybına neden olur. Anti-HIV aktivitesi, son çalışmalar, boromisinin güçlü bir anti-HIV aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (Kohno, ve diğ., 1996). Klinik olarak izole edilmiş HIV-1 suşunun yanı sıra kültürlenmiş suşun in vitro replikasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği bulundu (Moreira, ve diğ., 2016).



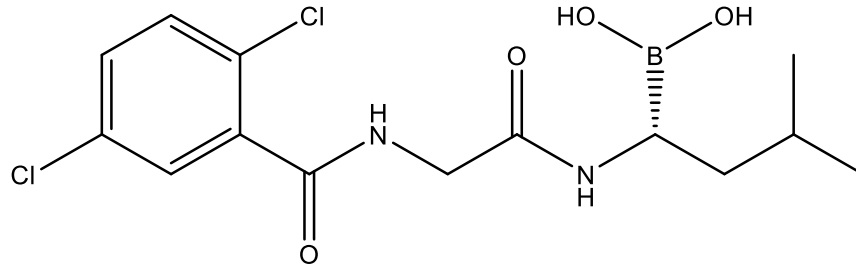
Şekil 2.3.1. 2. Aplasmomisin bileşiğinin yapısı

Streptomyces griseus'tan izole edilen ve anti-plazmodyum aktivitesi ile adlandırılan aplasmomisin, yaklaşık 10 yıl sonra keşfedilmiş ve Boromisin'e benzer bir yapıya sahiptir (Nakamura, ve diğ., 1977). Bu iki doğal üründe bor, poliollerin kompakt hale gelmesini sağlayan yapısal bir role sahiptir. Bu iki bakteriyel bileşiğin, yakın zamanda, mide kanserinde rol oynayan bakteriler olan *Helicobacter pylori*'de biyomoleküler bir yolu inhibe ettiği bulunmuştur (Dembitsky, ve diğ., 2011). Aplasmomisin B ve C ve N asetilboromisin dahil olmak üzere bu iki antibiyotik türü de doğal olarak bulunur ve ayrıca antibiyotik aktivitesi sergilemiştir (Kane, ve diğ., 2006).



Şekil 2.3.1. 3. Bortezomib bileşğinin yapısı

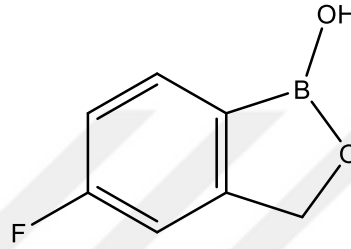
İlk onaylanan Bortezomib, Velcade® adı altında pazarlanmış ve ABD FDA tarafından 2005'te ve Health Canada tarafından 2008'de multiple miyelom tedavisi için onaylanmıştır. (Richardson, ve diğ., 2008). Yapı ilk olarak, hedefle birlikte kristalizasyon yoluyla nükleofilik treonin tortusuna kovalent olarak bağlandığı bulunan peptidik aldehitler formundaki substrat taklitlerinin incelenmesi yoluyla keşfedilmiştir (Adams, ve diğ., 2004). Ancak aldehitler daha sonraki ilaç geliştirme çalışmalarını için uygun olmadığından boronik asit analogları test edilmiş ve yüksek etki göstermiştir (Arkwright, ve diğ., 2017). Anti-kanser aktiviteleri için önerilen birkaç mekanizma bildirilmiş olsa da ana etki mekanizması protein yıkımının her yerde bulunma yolunu içerir; Bortezomib, tümör hücrelerinde apoptotik proteinlerin bozulmasını bloke eden bir proteazom inhibitörüdür (Chen, ve diğ., 2011). Ortak kristalizasyon çalışmaları yoluyla, proteazomun aktif bölgelerindeki nükleofilik treonin kalıntılarının etkisini bloke ederek, tersine çevrilebilir bir kovalent inhibitör olarak hareket etmektedir (Groll, ve diğ., 2006; Shirley, ve diğ., 2016).



Şekil 2.3.1. 4. Ixazomib bileşğinin yapısı

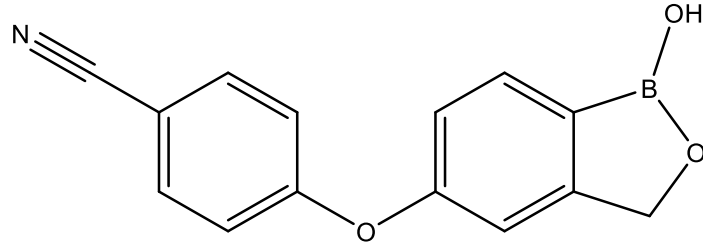
Bortezomib'e benzer şekilde Ixazomib, multiple miyelomun tedavisi için 2015 yılında FDA ve 2016 yılında Health Canada tarafından onaylanmıştır ve ikinci nesil bir proteazom inhibitörüdür (Kumar, ve diğ., 2017). Velcade® (Bortezomib) şu anda haftalık

enjeksiyonlar halinde uygulandığından, ilk oral proteazom inhibitörüdür. Ixazomib, Bortezomib'e göre daha iyi farmakokinetik özelliklere sahip bor içeren proteazom inhibitörlerinin taranmasından keşfedilmiştir (Muz, ve diğ., 2016). Etki mekanizmasının Bortezomib'inkiyle neredeyse aynı olduğu bulundu, daha güçlü olduğu, olumsuz yan etkilere daha az eğilimli olduğu (daha yüksek özgüllük) ve hatta tümörleri Bortezomib'e direnç geliştiren bazı hastaları tedavi ettiği bulunmuştur(Ludwig, ve diğ., 2019). Onaylanmış olmasına rağmen, Ixazomib ayrıca multiple miyelomu tedavi etmek için kombinasyon tedavilerinin bir parçası olarak klinik denemeler yapılmaktadır (Markham, ve diğ., 2014).



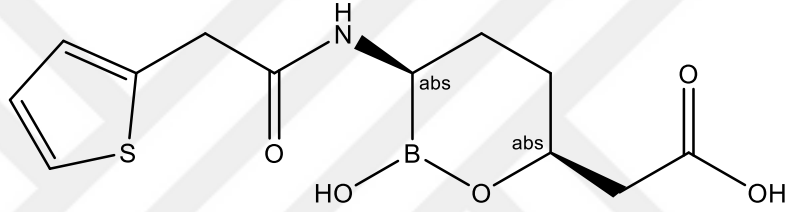
Şekil 2.3.1. 5. Tavaborol bileşiğinin yapısı

Tavaborol, bir mantar enfeksiyonu olan onikomikozu tedavi etmek için 2014 yılında ABD FDA tarafından küresel onay almıştır (Jinna, ve diğ., 2015). Yapısı ilk olarak benzer bir anti-bakteriyel borinik esterin yapı-aktivite ilişkisi çalışmalarıyla keşfedilmiştir. Birkaç mantar türüne karşı test edildiğinde, geniş spektrumlu antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Zhang, ve diğ., 2015). Tavaborol'un etki mekanizmasının mantar Leucyl-tRNA sentetazının inhibisyonunu içerdiğine, protein sentezini ve dolayısıyla mantar büyümesini engellediğine yorumlanmaktadır ve mantar Leucyl-tRNA sentetaz için insan eşdeğerinden üç kat daha seçicidir (Plescia, ve diğ., 2020). Bor içeren kısmın gerekliliği, karbon yerine bor ikame eden analogların test edilmesi üzerine 50 kat önleyici aktivite kaybıyla doğrulanmıştır (Markinson, ve diğ., 2018).



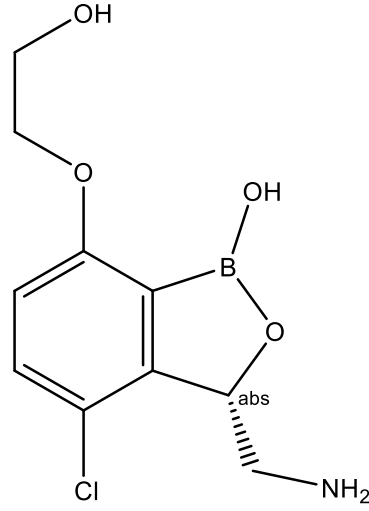
Şekil 2.3.1. 6. Krisaborol bileşiğinin yapısı

Krisaborol, hafif ila orta dereceli egzamayı tedavi etmek için 2016 yılında ABD FDA ve Kanada Sağlık Bakanlığı tarafından 2018 yılında onaylanmıştır (Akama, ve diğ., 2009). Tavaborole'u, her ikisi de anti-inflamatuar yanıt yollarında rol oynayan fosfodiesteraz 4 ve sitokin salma aktörlerine karşı bor içeren bir bileşik kitaplığının taranması yoluyla keşfedenle aynı araştırma grubu tarafından keşfedilmiştir (Livermore, ve diğ., 2013).



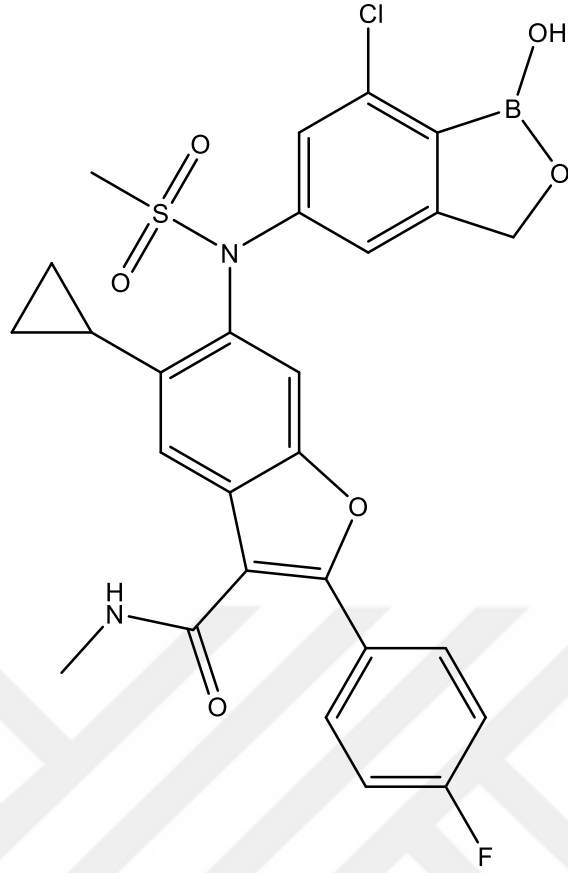
Şekil 2.3.1. 7. Vaborbaktam bileşiğinin yapısı

Vabomere™, bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için 2017 yılında ABD FDA ve Health Canada tarafından onaylanan bir kombinasyon ilacıdır (Lee, ve diğ., 2019). Bir β -laktamaz inhibitörü olan Vaborbaktam ve bir bakteri hücre duvarı sentezi inhibitörü olan Meropenem içerir. Vaborbaktam bir antibakteriyel olmasa da β -laktamazlar tarafından hidrolizini önlemek için karbapenem, meropenem ile kombinasyon halinde uygulanır. Keşfi açısından, boronik asitlerin, katalitik serin kalıntıları ile tersinir kovalent bağları sayesinde güçlü β -laktamaz inhibitörleri olduğu bilinmektedir (Beesley, ve diğ., 1983). Bu nedenle Vaborbaktam, bilinen çeşitli aktif analogların yapı bazlı modifikasyonları ile tasarlanmıştır. Tersinir bir kovalent inhibitör olması amaçlanmış olup ve kristalografi çalışmaları, katalitik serin ile kovalent kompleksleşmesini doğrulanmıştır. Ayrıca, araştırmacılar, daha esnek substratlar ile doğal serin proteazların daha küçük aktif bölgelerine uymayan bir siklik boronik asidin dahil edilmesi yoluyla diğer memeli serin proteazları üzerinde seçiciliği başarılı bir şekilde indüklenmiştir (Hecker, ve diğ., 2015).



Şekil 2.3.1. 8. GSK3036656 bileşiğinin yapısı

Başka bir benzoksaborol bileşiği olan GSK3036656, Tüberküloz enfeksiyonlarının tedavisi için bir lósiltRNA sentetaz inhibitörüdür; tRNA'nın Ade76'sına bağlanan ve RNA sentezini önleyen tersine çevrilebilir kovalent bir inhibitör olarak tasarlanmıştır (Tenero, ve diğ., 2019). Yapısı, direnç gelişimi nedeniyle Faz II'de başarısız olan GSK2251052 veya AN3365'in değiştirilmiş bir versiyonudur (Li, ve diğ., 2017). Bir SAR çalışması, insan homologuna göre bakteriyel lósil-tRNA sentetaz için seçicilik gösteren, olumlu farmakokinetik özelliklere sahip güçlü bir inhibitör olan GSK3036656'yı üretti. Bu bileşik şu anda Tüberküloz için Faz II çalışmalarındadır (Monteferrante, ve diğ., 2016).



Şekil 2.3.1. 9. GSK2878175 bileşiğinin yapısı

Bir antiviral bileşik olan GSK2878175, Hepatit C virüsü RNA polimeraz NS5B enzimini hedefleyen bir kombinasyon tedavisi olarak Faz II klinik denemelerini tamamlamıştır. Tasarımı, başarısız bir klinik adayın metabolik profilinin optimizasyonlarından kaynaklanmıştır. Birkaç tur yapısal modifikasyondan sonra, *in vitro* ve hücre analizleri GSK2878175'in güçlü aktivitesini doğrulamış ve *in vivo* çalışmalar üstün farmakokinetik profilini doğrulamıştır (Chong, ve diğ., 2019).

2.4. Hücre Metabolizması Üzerinde Etkin Noktalar

Her üretilen bileşik, beklenenden farklı etki gösterebilir. Bu etki hücreyi öldürebileceği gibi, metabolizmasını hızlandıracak etkilere de sahip olabilir. Hatta hücre metabolizmasına etki etmeyebilir. İlaç amaçlı geliştirilen bir bileşiğin öncelikle sitotoksik ve genotoksik etkileri ölçülmelidir.

2.4.1. Hücre Apoptozu ve Enzim İnhibisyonu

Programlanmış hücre ölümü veya apoptoz süreci genellikle farklı morfolojik özellikler ve enerjiye bağlı biyokimyasal mekanizmalarla karakterize edilir. Apoptoz, normal hücre döngüsü, bağışıklık sisteminin düzgün gelişimi ve işleyişi, hormona bağlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal kaynaklı hücre ölümü gibi çeşitli süreçlerin önemli rol oynar. Apoptoz, genotoksik stres gibi hücre içinden gelen sinyaller veya ligandların hücre yüzeyi ölüm reseptörlerine bağlanması gibi hücre dışı kaynaklı sinyaller tarafından tetiklenebilir. Uygun olmayan apoptoz (çok az veya çok fazla) nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün bozukluklar ve birçok kanser türü dahil olmak üzere birçok hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle araştırmalar, hücre döngüsü mekanizmasının aydınlatılmasına ve apoptozu kontrol eden sinyal yollarına odaklanmaya devam etmektedir (Elmore., 2019; Pistrutto, ve diğ., 2016). Apoptotik hücre ölümü mekanizmasındaki kuralızsızlık, kanserin ayırt edici özellikleridir. Apoptoz sadece tümör gelişimi ve ilerlemesinden değil, aynı zamanda tedavilere karşı tümör direncinden de sorumludur. Şu anda klinik onkolojide kullanılan çoğu antikanser ilacı, kanser hücresi ölümünü tetiklemek için bozulmamış apoptotik sinyal yollarından yararlanır. Bu nedenle, ölüm yollarındaki kusurlar ilaç direncine neden olabilir ve bu nedenle tedavilerin etkinliğini sınırlayabilir (Wong., 2011; Pistrutto, ve diğ., 2016).

Enzim inhibisyonu, enzimlerin aktivitesini azaltılması veya durdurulması olayıdır. Enzimler inhibe edildiklerinde, enzimin katalizlediği reaksiyonların hızları da düşer. Enzim inhibisyon çeşitleri; dönüşümlü inhibisyon, dönüşümsüz inhibisyon, allosteric inhibisyon ve geri besleme inhibisyon olarak dört çeşittir. Dönüşümlü inhibisyonlar; yarışmalı, yarışmasız, yarı yarışmalı ve lineer karışık tip inhibisyonu olarak da dörde ayrılmaktadır. Dönüşümsüz inhibisyonda inhibitör enzime kovalent bağlar ile bağlanır. Dönüşümlü inhibisyonda ise, inhibitör yapısal olarak substrata benzerliğinden, enzim tarafından kolayca yakalanır. Böyle bir durumda inhibitör, substrat ile yarışır buna yarışmalı inhibisyon denir. Yarışmasız inhibisyonda ise inhibitör enzime aktif bölge dışından bağlanır. Yarı yarışmalı ise inhibitör sadece enzim substrat kompleksine bağlanır. Kanser ilaçları genellikle hücrelerin bölünmesi için gerekli reaksiyonu sağlayan enzimi inhibe ederek bölünmeyi durdurur. Asetilsalisilik asit, ağrı ile ilgili enzim reaksiyonlarını inhibe ederek ağrıyı durdurur. Birçok böcek ilacı ve zehirler de enzim inhibisyonu amacıyla geliştirilmiştir. Birçok antibiyotik ise bakteri ribozomunun protein sentezini durdurarak veya peptidoglikan tabakasının üretimini inhibe ederek yeni hücre oluşumunu engellemektedir.

Tiyorekdoksin redüktaz hücrenin kendi kendini ölümünü engelleyen, tiyoredoksinin proteininin redoks tepkimeleriyle indirgenmesinden sorumludur. Bu proteinler sistein-tiyol disülfid değişimi yapar ve indirgeyici antioksidan davranışı sergiler (Holmgren ve diğ. 2010). Tiyoredoksin Redüktaz enzimi ile etkileşime girer ve tekrar indirgenirler. Bu indirgenme sonunda proteinler okside halde kalır. Bu şekilde hücre için apoptoz sinyali başlatılır ve hücrelerde metabolik yollar zarar uğratıldığından hücre çoğu zaman kendi kendini öldürmesi yoluyla yok olur. Bu duruma apoptoz adı verilir.

Özellikle altın bağlı karben kompleksleri çok daha kararlılık göstermekle beraber bu enzimin p53 yolağını bozarak hücreyi ölüme sürüklediği görülmüştür (Rush ve diğ., 1987,1987).

2.4.2 DNA Mutasyonları

Canlılarda, DNA’da mutasyonlar sonucu ölümler, yeni hastalık türleri, polimorfizm veya kanser hastalığı ortaya çıkmaktadır. Kemoterapi yollarında ilk nükleik asitler hedef alınır (Yang ve diğ., 1999). En çok kullanılan kanser ilacı cisplatin olup yan etkileri oldukça fazladır. DNA’ya bağlanabilecek bir bileşik sentezinde ya DNA’nın hidrojen bağlarına ya da sarmalın dışından fosfodiester bağlarına bağlanması hedeflenir. İki durumda da transkripsiyon duracağından, translasyon basamağı yapılmayacaktır (Pizarro ve diğ., 2009). Örneğin cisplatin DNA’nın zayıf hidrojen bağlarına bağlanarak DNA yapısını bozup protein sentezine dolaylı etki etmesi ile bilinir. Bu şekilde hücrelerin bölünmesi durdurularak metastaz yapması engellenmektedir (Fraval ve diğ., 1978; Beck ve diğ., 1973).

2.4.3 Reaktif Oksijen Üretimi

Reaktif oksijen türleri (ROS), en az bir oksijen atomu ve bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip moleküllerdir. Fizyolojik koşullar altında, aerobik solunum veya inflamatuvar süreçler gibi hücre süreçlerinde özellikle hepatositlerde ve makrofajlarda küçük miktarlarda ROS oluşur. Reaktif oksijen türleri öncelikle sinyal molekülleridir. Ayrıca hücre farklılaşmasını ve apoptozu indükleyerek doğal yaşlanma sürecine katkıda bulunurlar. Fizyolojik koşullar altında, vücuttan serbest radikallerin oluşumu ve uzaklaştırılması arasında bir denge vardır (Jakubczyk ve diğ., 2020).

Hücre içinde metabolik yollardan üretilen serbest oksijen radikalleri hücre için büyük tehlike arz etmektedir. Bu radikaller açık uçlu olup herhangi bir hücre içi yapıya bağlanarak yapısını bozabilir. Hatta DNA yapısına bağlanarak parçalayabilir ya da mutasyona uğratabilir. Metal-NHC komplekslerinin kullanımı sonucunda hücre içi serbest oksijen radikallerinin oluşumundaki yolların aktivitelerini daha çok artırarak, hücre içi reaktif oksijen radikallerinin artması ve orantılı olarak DNA ve protein sentezi hasarlarının artmasıyla kendi kendini öldürmesiyle sonuçlandırmıştır (Marzano ve diğ., 2009; Gautier ve diğ., 2012).

2.5. Biyolojik Aktivite Testleri

Biyolojik etkinliği yüksek bileşiklerin değerlendirmesinde sitoksisite, genotoksisite, DNA bağlanma özellikleri, antibakteriyel özellik ve enzim inhibisyonu yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Aşağıda bu testlerle ilgili ayrıntılı bilgi mevcuttur.

2.5.1. Sitotoksisite ve Genotoksisite Testleri

Günümüzde birçok sitotoksisite tekniği vardır. Bunlar arasında en çok doğruluk payı oranı, tekrar edilebilirlik ve en az maliyetli olanlar tutunabilmiş ve bilim camiası tarafından bilinir olmuştur. Bu yöntemler arasında spektrofotometrik ölçümler en üst sıralarda kendine yer edinmiş olup hücrenin ölüm mekanizması araştırılmaktadır (Cook ve Mitchell, 1989). Sitotoksisite testleri floresans özelliklerle incelenebilse de genellikle kolorimetrik yöntem kullanılmaktadır. Bu kolorimetrik yöntemlerde tetrazolyum tuz çeşitleri kullanılır. Metabolik aktivite sonrasında tetrazolyum kendi spesifik ürün tuzuna dönüşerek kendine özgü bir renk verir. Bu sayede renk yoğunluğunu spektrofotometre cihazı yardımıyla ölçerek canlılık üzerinde fikir sahibi olmaya yardımcı olunmaktadır. Örneklerin çeşitli konsantrasyonuna maruz kalan hücrelerin canlılık grafiği doğru orantı, ters orantı, ya da etkisiz olarak ölçülebilir (Freshney, 2015; Weyermann ve diğ., 2005).

2.5.5.1. MTT Testi

Bu test, mikrobiyolog Tim R. Mosmann tarafından 1983 yılında geliştirilmiştir (Mosmann, 1983). MTT testi hızlı sonuç vermesiyle beraber oldukça kolay bir şekilde tekrar edilebilir. Nicel olarak hücre canlılığı hakkında bilgi veren sonuçlar elde edilir. Mitokondride bulunan elektron taşıma sistemi ve krebs döngüsüne katılan süksinat dehidrogenaz ölçülür. MTT boyası bu enzim tarafından parçalanarak formazan tuzu elde

edilir (Liu ve diğ, 1997; Vinken ve Blaauboer, 2017). Bu tuzlar hücre atığı olarak hücre içerisinde kalır ve DMSO yardımıyla hücre parçalanır (Fotakis ve Timbrell, 2006). Bu parçalanma ile DMSO içerisinde iyi çözülen formazan kolaylıkla spektrofotometrede okunabilir. Bu formazan tuzu çözeltileri eflatun mor renkleri ile gözlenir. Hücre canlılığı bu renklerin yoğunluğu ile anlaşılır (Denizot ve Lang, 1986; Chapdelaine, 2001; Vellonen ve diğ, 2004; Stockert ve diğ, 2012). MTT deneylerinde antikanser, biyouyumluluk, sitotoksosite gibi deneylerin sonucuna ulaşılabilir. Bu deneylerde kullanılan hücreler ISO standartlarında kabul gören; L929 sağlıklı fare fibroblastı, MCF-7 insan meme kanseri sıkça kullanılmaktadır. İnsanda meme kanserinden sonra kanserin ilk metastaz yaptığı yer akciğer ve sonraki adımı bağırsak olmaktadır. Bu sebeple antikanser çalışmalarında bir süreç similatörü olarak farklı hücre hatlarının denenmesi doğruluk payının oluşmasında önemlidir.

2.5.5.2. DNA Bağlanma Testi

Bu test, biyokimyager Arne W. K. Tiselius tarafından bulunan agaroz elektroforez yönteminin geliştirilmesiyle bulunmuştur. Bu yöntem sonunda agaroz içerisinde DNA elektrik akımında yürütülerek şekillerine veya boyutlarına göre ayırım yapılabilmektedir. Nicel ve nitel gözlemlerin ortak çalışması olan bu deney sonunda uygulanan kimyasalın DNA ile etkileşiminin olup olmadığı kanısına varılır. Bu deneyde ise bakteri plazmiti olan pBR322 plazmiti kullanılmıştır. Bu plazmit 1977 yılında Hebert Boyer laboratuvarında geliştirildi. 4361 baz çifti uzunluğundadır ve iki antibiyotiğe direnç geni taşımaktadır. Doğal olarak bulunduğu solüsyonda coil, süper coil veya halkasal yapıda olabilir. Bu da agaroz jel içerisinde hareket etme özgürlüğüne oldukça ciddi etki etmektedir (Watson, 1988). Bu yapılan deneyler sonrasında kullanılan DNA yapısının halkasal olması ve sarmal yapıda olmasından ötürü coil ve süpercoil yapısının bozulmasına sebep olur. Bazı durumlarda zayıf hidrojen bağlarına bağlanması ile mutasyona sebep olabilmektedirler.

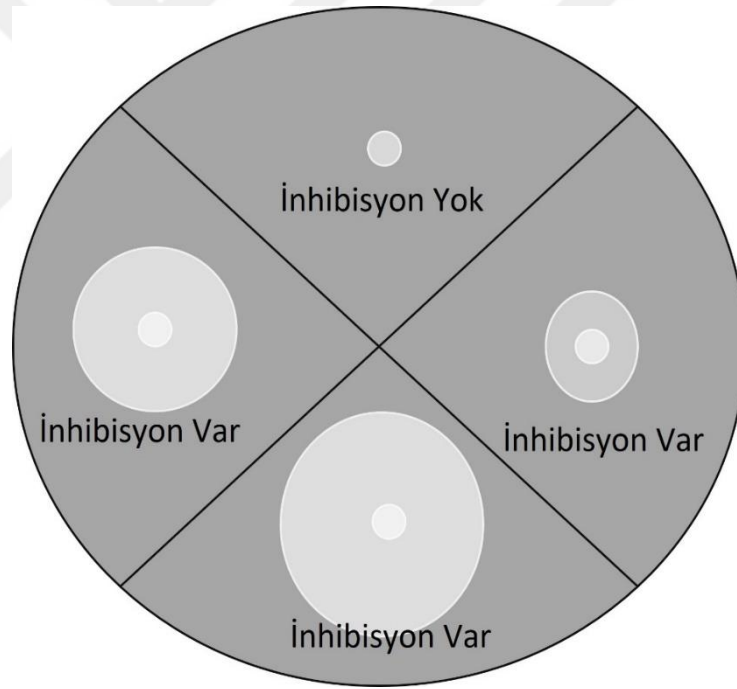
2.5.2. Antibakteriyel Testler

Antibakteriyel testleri, çoğunlukla patojen mikroorganizmaların üremesinin ya da gelişiminin engellenmesi için kullanılacak antibiyotiklerin ve etki dozlarının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Antibakteriyel testleri çeşitli yöntemler ile yapılabilmektedir. Sıkça kullanılan bakteriler arasında *Escheria coli* ve *Bacillus subtilis* vardır.

E. coli bakterileri memeli kalınbağırsağında sıkça bulunmakla birlikte gram negatif bakteriler sınıfından bir bakteridir. *B. subtilis* ise gram pozitif bir bakteri olup aerobik ya da anaerobik olarak görülebilir. Bu iki bakteri de farklı alt türleri ile insan sağlığını tehdit edebilecek potansiyele sahiptir.

2.5.2.1. Disk Difüzyon Metodu

Disk difüzyon (Kirby Bauer Yöntemi) bunlar arasında önemli olanlardan biridir. Bu yöntem yarı-sayısal bir metot olmakla beraber seri dilüsyon yapılmaması ve kolay yorumlanması avantajıdır. Hassasiyeti diğer yöntemlere göre biraz düşüktür. Bu yöntemde antibiyotik belli dozlarda antibiyotik emdirilmiş diskler kullanılmaktadır. İnkübasyon sonrası disk etrafında oluşan zon değerine bakılarak antibiyotiğe duyarlılık ya da direnç durumu belirlenir. Şekil 2.5.2.1.1. de görüldüğü gibi diskler besiyeri içeren petri üzerinde etki ettiği alanın çapına bakılmıştır.



Şekil 2.5.2.1. 1 Disk Difüzyon Metodunda İnhibisyon Varlığının Anlaşılması

Şekil 2.5.2.1.1.'de görüldüğü gibi inhibisyon varlığı ancak malzemeli diskin alanda ölüme sebep olmasıyla ölçülebilir. Burada koyu gri renk bakterilerin yayıldığı alanı gösterirken açık gri alan malzemenin öldürdüğü ve bakterilerin yaşayamadığı alan olarak tanımlanır.

Hiç öldürme olmasa bile disk yarı çapı ölçülmesi gereklidir. Bu şekilde malzemelerin antibakteriyel olup olmadığı yarı çap ölçülerek söylenebilmektedir (Gürses ve diğ., 2021).

2.5.2.2. Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakterilerin Farkları



Şekil 2.5.2.2. 1. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre zarı farkları.

Gram-pozitif bakteriler Gram boyama işlemi sonunda mor renk veren bakterilerdir. Gram-negatif bakteriler mikroskop altında pembe renk verirken, Gram-pozitif bakteriler mor-mavi renk verirler. Gram sınıflandırma sistemi ampiriktir ve daha çok hücre duvarı arasındaki yapı farklarına dayanır. Gram-negatif bakterilerin pek çoğu patojendir. İnsanlarda hastalık yapma olasılıkları yüksektir. Bu hastalık yapma yetisi, Gram-negatif hücre duvarının bazı özelliklerinden, LPS (lipopolisakkarit) içeriğinden kaynaklanmaktadır.

2.5.3. Enzim İnhibisyonu Testleri

Organik maddelerin biyokimyasal reaksiyonlarının çoğu enzim adı verilen proteinler tarafından katalize edilir. Bunlar reaksiyona girerler ve değişime uğramadan reaksiyondan çıkarlar. Enzimler, apoenzim ve kofaktör olarak ikiye, kofaktörler esansiyel iyonlar ve koenzimler olarak ikiye, esansiyel iyonlar aktivatör iyonlar ve metalloproteinlerin metal iyonları olarak ikiye, koenzimler kosubstratlar ve prostetik gruplar olarak ikiye ayrılır. Enzimler 6 gruba ayrılır bunlar sırasıyla; oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar, ligazlardır. Enzimatik aktiviteyi substrat konsantrasyonları, ısı, zaman, pH ve inhibitörler etkilemektedir. Bu inhibitörler ilaç sanayisinden silah sanayisine kadar çeşitli yelpazede geliştirilmektedir. Enzim inhibisyonu geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak ikiye ayrılır. Geri dönüşümlü inhibisyonda yarışmalı, yarışmasız, bağımsız olarak üçe ayrılır. Yarışmalıda inhibitör substrat yerine enzime daha hızlı bağlanarak reaksiyonu inhibe eder. Yarışmasızda ise inhibitör substrattan bağımsız bir şekilde enzime farklı yerden bağlanır. Bağımsızda ise enzim-substrat bağının kurulmuş olduğu komplekse bağlanır.

Öte yandan geri dönüşümsüz inhibisyonda ise enzim inhibitöre bir kere bağlandıktan sonra ayrılmayacağından enzim özelliğini kalıcı şekilde yitirir (Sweeney, 2001). Bu tezde kullanılan asetilkolinesteraz ve ksantin oksidaz enziminin inhibitörleri ticari olarak da satılmaktadır. Alzheimer gibi hastalıklarda asıl sebep genetik olmakla birlikte çevresel faktörlerin de etkisi olduğu bilinmektedir. Bu, alzheimer hastalarında kişisel bakım ve günlük ihtiyaçlarını yerine getirememeye durumları olan bir beyin hastalığı olup hafıza kaybıyla ve hastanın bir bilgiyi işleme zorluğuyla kendisini belli etmektedir. Asetilkolinesteraz enzimi asetilkolinleri parçalayarak beyin işleyişini bozmaktadır. Asetilkolin sinir-kas ikilisinin arasındaki uyarı akışını sağlamasıyla görevlidir. Asetilkolin çok biriktiğinde parkinson hastalığı, yetersizliğinde ise alzheimer gibi hastalıklar sıkça görülmektedir. Asetilkolinesteraz enziminin inhibitörü olarak bilinen alzheimer ilaçlarının yaygın olarak kullanılan etken maddeleri ise şunlardır: Takrin, donapezil, rivastigmin, ve galantamindir. Ksantin oksidaz enzimi ksantin yanında pürin yıkımından da görevlidir. Bu yıkımlar sonucunda hidrojen peroksit açığa çıkar ve bu durum hücre yaşlanmasını hızlandırır. Ksantini ürik aside dönüştürür. Bu esnada oksijen de süperoksit'e dönüştürülerek hücre içi oksidatif hasara sebep olur. Kofaktör olarak molibden, süt ve süt ürünlerinde çokça bulunmaktadır. Bu da ürik asitle ilişkili olan gut hastalığında kullanılan allopurinol ilacının ksantin oksidaz enziminin inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bir başka ilaç ise febuxostat maddesidir.

Farklı enzimleri hedef alan literatürde inhibisyon çalışmaları mevcuttur. Bu inhibisyon çalışmalarında DNA Giraz, ve Monoamin Oksidaz gibi enzimler kullanılmıştır. DNA Giraz enzimi DNA'nın tersiyer yapısının oluşmasında rol alan topoizomeraz sınıfı enzimdir. Topoizomeraz 2 olarak da bilinir. Yeni bir DNA şeridinin sentezi tamamlandıktan sonra DNA giraz, replike olmuş DNA'nın tekrar doğal haline kıvrılmasına yardımcı olur. Kanser ilaçları gelişiminde etkili olup topotekan gibi ilaçlar ticari olarak satılmaktadır (Aroso, ve diğ., 2021). Monoamin Oksidaz (MAO) enzimi monoaminlerin oksidasyonunu katalizleyen enzimdir. Dopamin, norepinefrin ve serotonin gibi amin nörotransmitterlerini parçalar. Parkinson, Alzheimer, amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve multiple skleroz gibi hastalıkların sebeplerinden biri de sinaptik boşluklardaki nörotransmitter maddelerin eksikliğidir. MAO enziminin aktivitesinin fazlalığı sinapslardaki söz konusu kimyasal maddelerin miktarında önemli derecede düşüğe sebep olmaktadır (Can, ve diğ., 2017) Bu yüzden de bu hastalıkların tedavisinde kullanılacak ilaç etken maddelerin MAO enzimlerini inhibe etmesi gerekmektedir.

Bu tür etken maddeler depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ve benzeri metabolik yollardaki enzimlerin aktivitesini inhibe ederek kontrol etmek ilaç geliştirmede temel hedef noktalardan biridir.



3. MATERYAL METHOD

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Fenilboronik asit fonksiyonelli NHC öncüllerinin sentezi, karakterizasyonu ve analiz aşamalarında kullanılan kimyasallardan (3-(bromometil)fenil)boronik asit ve ortofenilen diamin bileşikleri MERCK firmasından, metil iyodür, etil bromür, benzil klorür, 2,3,5,6-tetrametilbenzil klorür ve döterolu-dimetilsülfoksit (DMSO-d₆) bileşikleri SİGMA-ALDRİCH firmasından, asetonitril ve dietileter bileşikleri ISOLAB firmasından temin edilmiştir. Biyolojik aktivite deneylerinde kullanılan 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) Bldpharm firmasından, PBS Bioshop firmasından, DMSO Merck firmasından, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Fetal Bovine Serum (FBS), Streptomisin/Penisilin Capricorn Scientific firmasından, yüksek erime dereceli agaroz (HMA), Tris Asetat EDTA (TAE), pBR322 plazmiti, Tris EDTA (TE), Agar, Luria Bertani Besiyeri, Ampisilin, Cisplatin, tripan mavisi, ksantin oksidaz, asetilkolin estera, ksantin, dietileter, ve EtBr ise Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır. Ayrıca, LabSolute marka 96 kuyucuklu plakalar ve 1 cm² quartz spektrofotometre küveti hücre kültürü ve enzim çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Cihazlar ve Yazılımlar

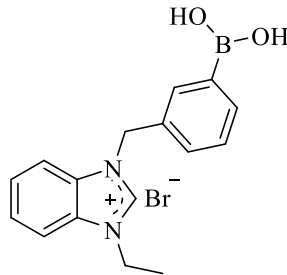
Hazırlanan benzimidazolyum tuzlarının karakterizasyonu için; FTIR çekimleri Perkin Elmer Spektrum Two model Infrared Spektroskopisi (FTIR), NMR spektrumları Bruker Avance III 400 MHz NMR Cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Biyolojik aktivite çalışmaları için Teknomar Chemocell LRCX-UV laminar flow kabini, Nüve NF200 santrifüj, WiseBath su banyosu, Esco CO₂'li inkübatör, Nüve NC40M otoklav cihazı, Memmert çalkalamalı su banyosu, BioTek marka Eon Mikroplate Spektrofotometre, Olympus CKX41 marka invert mikroskop, Arçelik MD120 Mikrodalga fırın, Syngene G-Box Jel görüntüleyici, GenSYS görüntüleme yazılımı, Gen5 spektrofotometre yazılımı, Microsoft Office, VWR yatay elektroforez tankı ve floresans sisteminin yanında Olympus cellSens Entry 2.1 bilgisayar yazılımı içeren Windows 10 işletim sistemli bir HP masaüstü bilgisayar kullanılmıştır.

3.3 Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Karben Tuzlarının Sentezi

meta-fenilboronik süstitüentli benzimidazolyum tuzlarını içeren tüm sentezler, standart Schlenk teknikleri kullanılarak, ısıyla kurutulmuş cam Schlenk içinde ve argon gazı içeren inert atmosfer altında gerçekleştirilmiştir. Diğer tüm reaktifler daha fazla saflaştırılmadan ticari olarak Merck ve Sigma-Aldrich şirketlerinden temin edilerek kullanılmıştır. Erime noktaları, Elektrotermal-9200 erime noktası cihazı ile hava altında cam kılcallarda belirlenmiştir. FTIR, NMR ve diğer tüm spektrumlar İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden (Malatya, TÜRKİYE) temin edilmiştir.

3.3.1. 1-(3-boronobenzil)-3-metilbenzimidazolyum bromür

1-metilbenzimidazol bileşiği (503 mg, 4 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (860 mg, 4 mmol) 4 mL asetonitril (CH₃CN) içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda sıcaklığında etil alkol/dietil eter karışımında (1:3) kristallendirilmiştir . Şekil 3.3.1. 1.'deki gibi bir bileşik ortaya çıkarılmıştır.

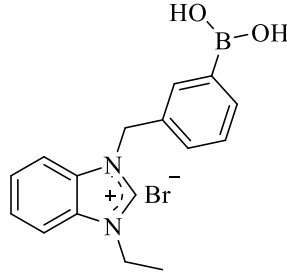


Şekil 3.3.1. 2. 1a Tuzunun molekül yapısı

3.3.2. 1-(3-boronobenzil)-3-etilbenzimidazolyum bromür

1-etilbenzimidazol bileşiği (584 mg, 4 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (860 mg, 4 mmol) 4 mL asetonitril içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda sıcaklığında etil alkol/dietil eter

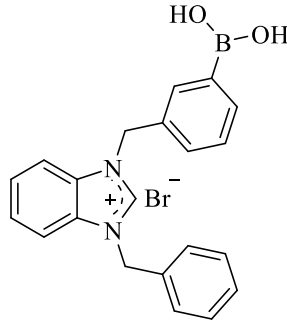
karışımında (1:3) kristallendirilmiştir . Şekil 3.3.2. 3.'deki gibi bir bileşik ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 3.3.2. 1. 1b Tuzunun molekül yapısı

3.3.3. 1-(3-boronobenzil)-3-benzilbenzimidazolium bromür

1-benzilbenzimidazol bileşiği (624 mg, 3 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (645 mg, 3 mmol) 4 mL asetonitril içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda sıcaklığında etil alkol/dietil eter karışımında (1:3) kristallendirilmiştir. Şekil 3.3.3. 4.'deki gibi bir bileşik ortaya çıkarılmıştır.

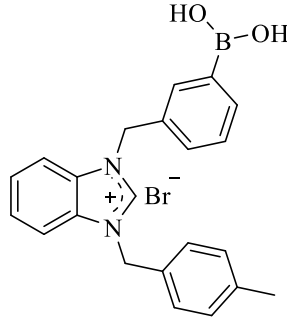


Şekil 3.3.3. 1. 1c Tuzunun molekül yapısı

3.3.4. 1-(3-boronobenzil)-3-(4-metilbenzil)benzimidazolium bromür

1-(4-metilbenzil)benzimidazol bileşiği (666 mg, 3 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (645 mg, 3 mmol) 4 mL asetonitril içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti

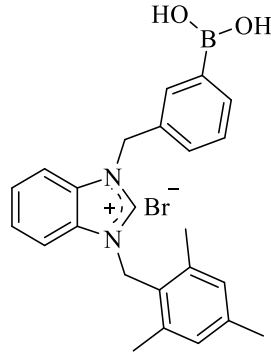
iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda sıcaklığında etil alkol/dietil eter karışımında (1:3) kristallendirilmiştir.



Şekil 3.3.4. 1. 1d Tuzunun moleküler yapısı

3.3.5. 1-(3-boronobenzil)-3-(2,4,6-trimetilbenzil)benzimidazolium bromür

1-(2,4,6-trimetilbenzil)benzimidazol bileşiği (750 mg, 3 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (645 mg, 3 mmol) 4 mL asetonitril içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda sıcaklığında etil alkol/dietil eter karışımında (1:3) kristallendirilmiştir.

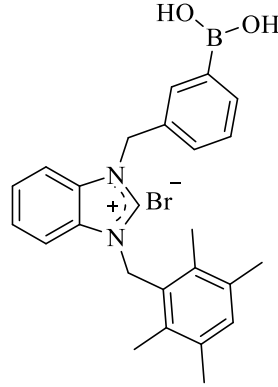


Şekil 3.3.5. 2. 1e Tuzunun moleküler yapısı

3.3.6. 1-(3-boronobenzil)-3-(2,3,5,6-tetrametilbenzil)benzimidazolium bromür

1-(2,3,5,6-tetrametilbenzil)benzimidazol bileşiği (624 mg, 3 mmol) ve (3-(bromometil)fenil)boronik asit (645 mg, 3 mmol) 4 mL asetonitril içerisinde 24 saat 82 °C'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözücünün (CH₃CN) fazlası vakum altında uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon karışımına dietil eter ilave edilerek tuz çöktürülmüştür. Çökelti iki defa eter (2x20 mL) ile yıkanıp, kalan katı vakum altında kurutulmuştur. Ham ürün, oda

sıcaklığında etil alkol/dietil eter karışımında (1:3) kristallendirilmiştir. Şekil 3.3.4. 5.'deki gibi bir bileşik ortaya çıkarılmıştır.



Şekil 3.3.6. 3. 1f Tuzunun moleküler yapısı

3.4 Boronik Asit Fonksiyonel NHC Karben Öncüllü Tuzların Karakterizasyonu

3.4.1 Erime Noktasının Belirlenmesi

Heparinli kılcal tüpün bir girişi ısıtılarak eritilmiş ve kapatılmıştır. Öteki girişinden içerisine bir miktar sentezlenen tuzlardan alınmış bu tüpler Elektrotermal-9200 erime noktası cihazına konularak kademeli bir şekilde ısıtılmıştır. Cihaza bütünleşmiş haldeki büyüteçlerden tüp içindeki tuzun eridiği sıcaklık ölçülmüştür.

3.4.2. Kızılötesi Spektrumu (FTIR) Ölçümü

Fenilboronik asit fonksiyoneli NHC öncüllerinin yapısal karakterizasyonu kızılötesi spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Spektrumlar cihazın ATR modu ile 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında kaydedilmiş ve Microsoft Excel yazılımıyla işlenmiştir.

3.4.3. NMR Ölçümü

Proton (^1H) ve Karbon (^{13}C) NMR spektrumları, dahili referans olarak tetrametilsilan ile DMSO- d_6 içinde 400 MHz (^1H), 100 MHz (^{13}C)'de çalışan Bruker Avance III 400 MHz NMR spektrometresi kullanılarak kaydedilmiştir.

3.5. *In Vitro* Hücre Kültür Sisteminde Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC öncüllerini Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan fenilboronik asit fonksiyoneli NHC öncüllerinin hücre kültür sisteminde direkt sitotoksosite testiyle *in vitro* antikanser testleri yapılmıştır. Tuzların direkt olarak

antikanser özellikleri MCF-7 (insan meme kanseri), A549 (insan akciğer kanseri) ve HCT116 (insan kolorektal kanseri) hücreleri üzerinde 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi yapılarak belirlenmiştir. Deney aşamaları ISO-10993-5 “Biological Evaluation of Medical Devices” standartlarına uygun hazırlanmıştır. Deney sonunda morfolojik değişiklikler invert ters ışık mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve hücrelerin 200X yakınlaştırma ile fotoğrafları çekilmiştir.

3.5.1. MTT Testi

MTT testi kullanılarak, *in vitro* koşullarda hücre canlılığı ölçülmektedir. Sarı renkli tetrazolyum tuzu olan MTT, hücre içerisinde mitokondride parçalanarak suda çözünmeyen formazan tuzuna dönüşür. Formazan tuzu mor, eflatun renklerinde bir tuzdur. DMSO ile iyi çözünebilen formazan 540 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazıyla ölçülebilmektedir.

Bu deneyin başlangıcında ticari alınan yüksek şekerli DMEM içerisine %10 olacak şekilde Fetal Sığır Serum ve %1 olacak şekilde penisilin-streptomisin karışımı eklenmiştir. Hücrelerin büyümesi kültür edilmesi sağlanmıştır. Daha sonrasında her hücre hattından ayrı ayrı 96’lık kuyucuklu plakalara her kuyucukta 10000 hücre olacak ekilmiştir. 24 saat 37°C sıcaklıkta %5 karbondioksitli inkübatörde inkübe edilmiştir. Ertesi gün tuzlar 1 mg/mL olacak şekilde tartılmış ve DMSO ile çözülmüştür. Bu çözeltiler DMEM ile istenilen konsantrasyonlara seyreltilmiş ve hücrelerle muamele edilmeye hazır hale getirilmiştir.

Hücrelerin bulunduğu plakalardaki eski besiyeri çekilip yerine içerisinde çeşitli konsantrasyonların bulunduğu besiyerlerinden 100 µL ekilmiştir. 24 boyunca 37 °C sıcaklıkta %5 karbondioksitli inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda hücrelerin invert mikroskopta görüntüleri alınmıştır. 5 mg/mL olacak şekilde MTT tuzu PBS tamponunda çözülmüştür. Ardından %10 h/h olacak şekilde MTT (5 mg/ml, PBS, pH 7.4 içerisinde) solüsyonu içeren DMEM hazırlanmış ve karben öncüllerini içeren hücrelerin bulunduğu besiyerleri çekilerek atılmıştır. Yerine MTT’li DMEM’den her kuyucuğa 100µL eklenmiştir. 4 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta %5 karbondioksitli inkübatörde inkübe edilmiştir. 4 saat sonra MTT’li besiyeri çekilerek atıldı her kuyucuğa 100 µLDMSO konularak spektrofotometrede 540 nm’de ölçümleri yapılmıştır. Analizinde Microsoft Office Excel uygulaması kullanılmıştır.

3.6. Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi

Bakterilerin yaşaması için uygun besiyeri gereklidir. *B. subtilis* ve *E. coli* için en uygun olanı LB besiyeridir. Sıvı besiyerinin hazırlanması için 20 gr LB, 1L saf suda çözüldükten sonra 121 °C’de 20 dakika otoklav edilmiştir. Besiyeri otoklav sonrası oda sıcaklığına geldiğinde steril tüplere 10 mL besiyeri konulup üzerine 1 mL bakteri kültürü bırakılmıştır. 24 saat sonra çalkalamalı 37 °C’lik su banyosunda besiyerinin bulanıklaşmasıyla bakteriler deneye hazır hale getirilmiştir. Cam petriler 180 °C’de 90 dakika kuru sterilizasyona tutulmuştur. Petrilere dökmek için katı besiyeri hazırlanmıştır. 20 gr LB ve 15 gr agar 1 L suda çözülmüş ve 121 °C’de 20 dakika otoklav edilmiştir. Otoklav sonrası sıcakken iyice karıştırılmış ve steril petri kaplarına 20 mL olacak şekilde dökülmüştür. İnce bir film halinde ateş etrafında çalışarak yayılmıştır. Yayma sonrasında petriler 37 °C’de 1 gece bekletilmiştir. Kontaminasyon kontrolü sonrasında sıvı bakteri kültüründen 100µL alınıp ve yayıcı ile iyice bütün petri zeminine besiyerine zarar vermeden dağıtılmıştır. 1 mg/mL hazırlanmış tuz ve antibiyotik çözeltilerinden 10µL çapı 0.5 cm olan kurutma kağıdından kesilmiş disklerle emdirilmiştir. Emdirilen diskler UV ışık altında steril edilerek kurutulmuş, ardından her petri kabına 2 antibiyotikli disk, 1 boş disk ve her malzeme çeşidinden içeren disklerden birer tane olacak şekilde katı besiyeri üzerine yüzeyi temas edecek şekilde konulmuştur. 24 saat 37 °C’de inkübe edilmiş ve cetvel yardımıyla bakterilerin yayılmadığı alan çapı ölçülmüştür.

3.7. Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Genotoksisite Özelliklerinin Belirlenmesi

pBR322 plazmitinin deney için ideal konsantrasyonu 1x Tris EDTA içerisinde çözülecek 0.05 µg/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Ardından her malzemeden ve kanser ilacı olan cisplatinden konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Kontrol için distile su kullanılmıştır. Bir 1.5 mL’lik santrifüj tüpü içerisine 4 µL 0.05 µg/mL pBR322 plazmiti içeren karışımdan konulmuştur. Üzerine 4 µL sırasıyla su veya cisplatin ya da tuzların hazırlanmış konsantrasyonlarının karışımından konuldu ve ağzı parafilm ile kapatılmıştır. 37 °C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. %1 HMA içeren jel hazırlandı. Bunun için 1 grama 100 mL 1x TAE kullanılmıştır. Tamamen eriyene kadar mikrodalgada ısıtılmış ve yürütme tankına dökülmüştür. Tarak konulmuş ve katılaşması beklenmiştir. Katılaşma sonunda tarak dikkatlice çıkarılmış ve tank tamamen TAE ile doldurulmuştur. İnkübatörden çıkarılan

tüplere 2 µL yürütme boyası eklenmiş ve 10µL karışım jel içerisinde oluşturulan kuyucuklara doldurulmuştur. Tankın kapağı kapatılıp 45 dakika 80 voltta yürütülmüştür. Yürütme sonrasında EtBr içeren TAE havuzunda boyanmış ve jel görüntüleyicisinde görüntülenmiştir.

3.8. Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Enzim İnhibisyon Özelliklerinin Belirlenmesi

3.8.1. Ksantin Oksidaz İnhibisyonu

İnek sütünden elde edilen ksantin oksidaz aktivitesi, 37 °C'de 294 nm'de ürik asit oluşumu ölçülerek spektrofotometrik olarak belirlenmiş, substrat olarak ksantin kullanılmıştır. Enzim inhibisyon protokolü için fosfat tamponu (50 mM, pH=7.4), 1mM ksantin ve 0.2 ünite ksantin oksidaz enzimi kullanılmıştır. Ksantin oksidaz'ın NHCöncülleri tarafından inhibisyonu, ürik asit konsantrasyonunun azaltılmasıyla ölçülmüştür. Ksantin oksidaz inhibisyon aktivitesi ve IC₅₀ değeri tespiti için farklı konsantrasyonda tuz türevleri eklenmiştir, 37 °C'de 294 nm'de ürik asit oluşumunun absorbansındaki azalmayı gözlemlenmiştir. Enzim, test edilen bileşiklerle 10 dakika önceden inkübe edilmiş ardından reaksiyon karışımına ksantin ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Test edilen tuzlar DMSO içinde çözündürülmüş daha sonra fosfat tamponu (50 mM, pH=7.4) ile seyreltildi. Reaksiyon karışımındaki nihai DMSO konsantrasyonu (%0.001 h/h)'den azdır. Bu oran enzim tahlili ile girişim yaratacak problem oluşturmamıştır. Test edilen bileşikler olmadan boş bir numune ölçülmüştür. Tüm deneyler üç tekrar halinde yapılmış ve değerler, üç deneyin ortalamaları olarak ifade edilmiştir. Allopurinol pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.8.2. Asetilkolinesteraz İnhibisyonu

NHC öncüllerinin asetilkolinesteraz inhibitör aktivitesi, Rahman ve Choudhary'nin modifiye yöntemiyle değerlendirilmiştir. 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 8.0, 150 µL), test bileşiği solüsyonu (10 µL) ve enzim solüsyonu (0.1 ünite/mL, 20 µL) karıştırılmış ve 25 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 10 µL DTNB (10 mM) ilave edilmiş ve substrat (10 µL ATCI, 14 mM solüsyon) ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. ATCI'nin hidrolizi, enzimin hidrolizi ile salınan DTNB ve tiyokolinin reaksiyonu ile oluşturulan renkli 5-tio-2-nitrobenzoat anyonunun oluşumu ile ölçülebilmektedir.

Renkli ürünün oluşumu, 10 dakika sonra 410 nm dalga boyunda ölçülmüştür. 10 µM maksimum konsantrasyonda donepezil, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.



4.ARAŞTIRMA BULGULARI

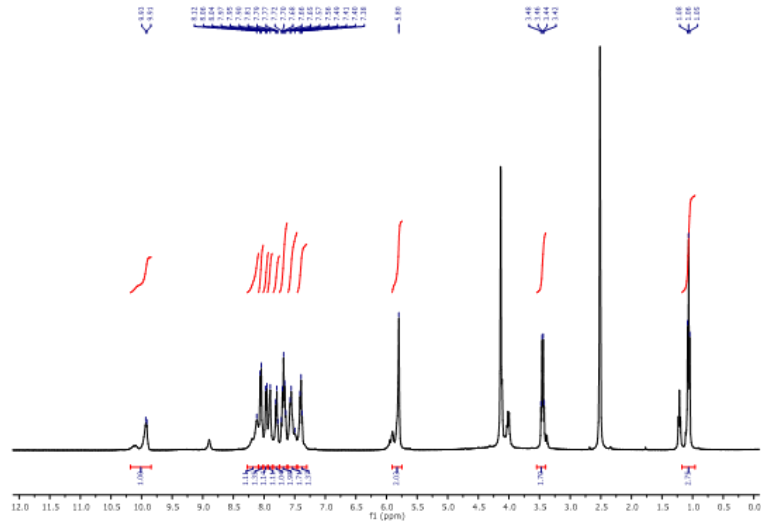
4.1. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin Yapısal Karakterizasyonu

^1H NMR grafiklerine göre benzimidazolyum tuzuna ait karakteristik tuz piki 9.5 ppm civarında singlet olarak görülmüştür. Boronik asit kısmında yer alan $-\text{OH}$ protonlarını 8.10 ppm de kısmen yayvan singlet pik olarak görülmüş olup 5.75 ve 5.79 ppm de benzilik protonları singlet pik olarak gözlemlenmiştir 2.19 ve 2.28 ppm de benzen halkası üzerindeki 4 tane metil protonlarını singlet pik olarak görülmüştür. (Metil ve etil gruplarına ait proton pikleri ?) Son olarak 7 ve 8 ppm aralığında aromatik protonları gözlemlenmiştir. ^{13}C NMR grafiklerine göre benzimidazolyum tuzuna ait karakteristik tuz piki 142 ppm civarında görülmüştür. 46.5 ve 50.5 ppm de benzilik karbon piklerini görülmekte olup 15.9 ve 20.7 ppm de benzen halkası üzerindeki 4 tane metil grubunun karbon pikleri gözlemlenmiştir. (Metil ve etil gruplarına ait karbon pikleri ?) Son olarak 115 ve 135 ppm aralığında aromatik karbon piklerini gözlemlenmiştir. FTIR grafiklerine göre 1561 spektrumunda benzimidazolyum halkasındaki karakteristik C-N gerilmesini görülmüştür. Ayrıca 3100-3400 arasında boronik asite ait yayvan O-H gerilmesini görülmüştür.

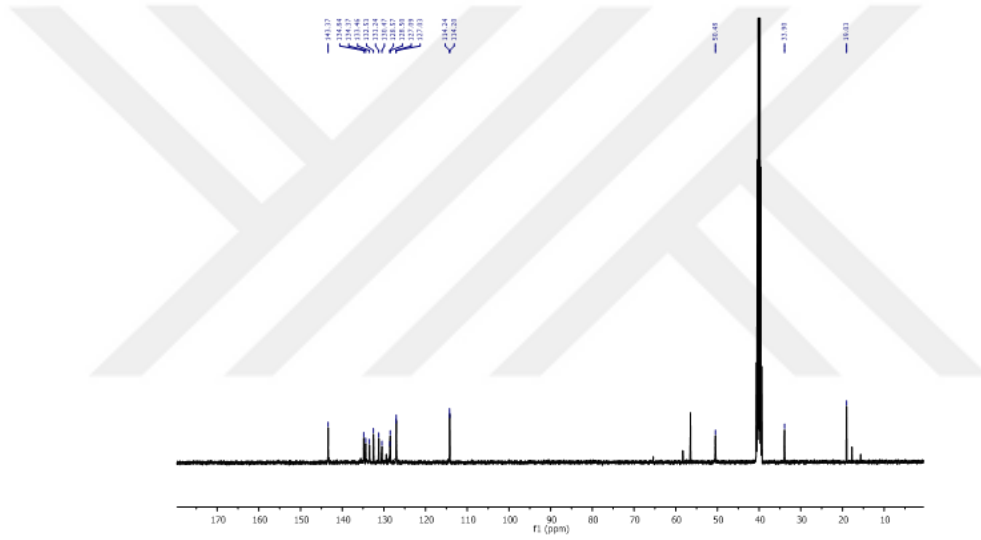
4.1.1. 1a Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.1. 1, Şekil 4.1.1. 2, ve Şekil 4.1.1. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

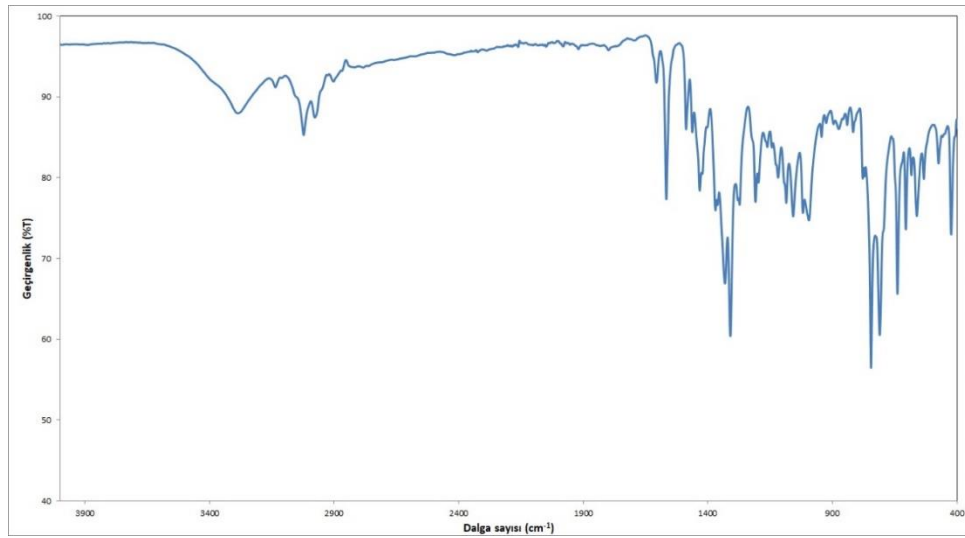
Verim: % 82 (1.14 g); e.n.: 168-169 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1568 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3284 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ 4.14 (s, 3H, $-\text{NCH}_3$); 5.80 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.38 ve 7.97 (m, 8H, Ar-**H**); 8.05 ve 8.16 (d, 2H, $J=7.7$ ve 7.9 Hz $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 9.93 (2-**CH**). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ 33.9 ($-\text{NCH}_3$); 50.5 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.2, 127.0, 127.1, 128.5, 131.2, 132.5, 133.5, 134.4 ve 134.8 (Ar-**C**); 143.4 (2-**CH**).



Şekil 4.1.1. 2. 1a Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.1. 3. 1a Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği

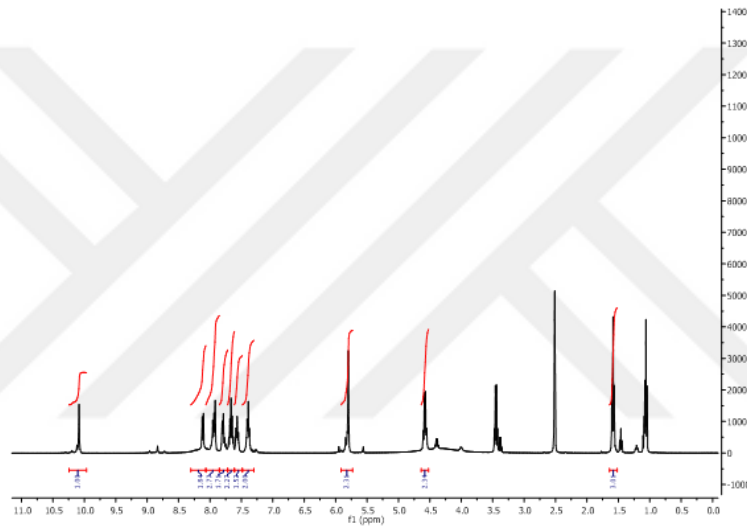


Şekil 4.1.1. 4. 1a Tuzunun FTIR grafiği

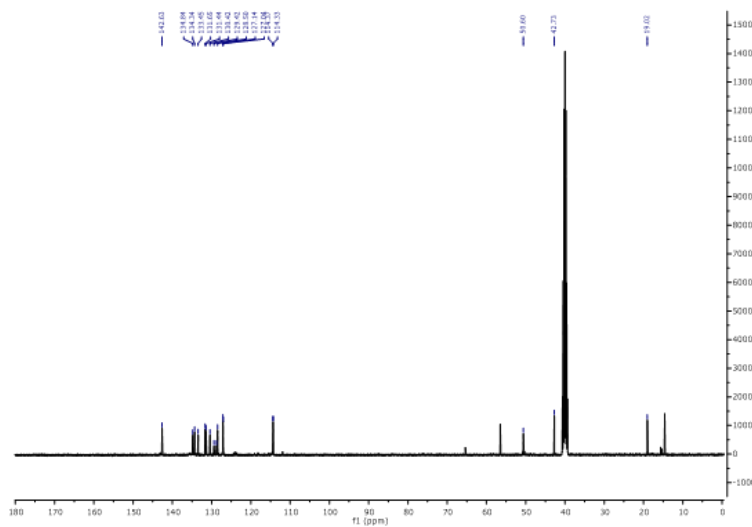
4.1.2. 1b Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.2. 5, Şekil 4.1.2. 2, ve Şekil 4.1.2. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

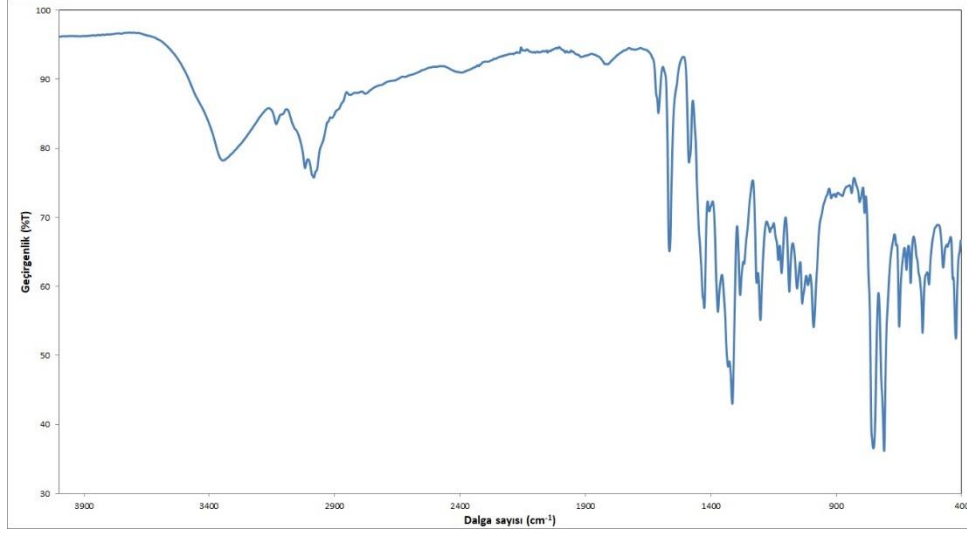
Verim: % 78 (1.13 g); e.n.: 214-215 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1565 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3343 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ 1.59 (t, 3H, $J=7.2$ Hz - NCH_2CH_3); 4.58 (q, 2H, $J=7.2$ Hz - NCH_2CH_3); 5.80 (s, 2H, - $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.37 ve 7.96 (m, 8H, Ar- H); 8.10 ve 8.12 (s, 2H, - $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 10.08 (2- CH). ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ 23.5 (- NCH_2CH_3); 31.8 (- NCH_2CH_3); 50.5 (- $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.2, 127.3, 127.5, 128.5, 133.5, 134.4 ve 134.8 (Ar- C); 143.1 (2- CH).



Şekil 4.1.2. 1. 1b Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.2. 2. 1b Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği

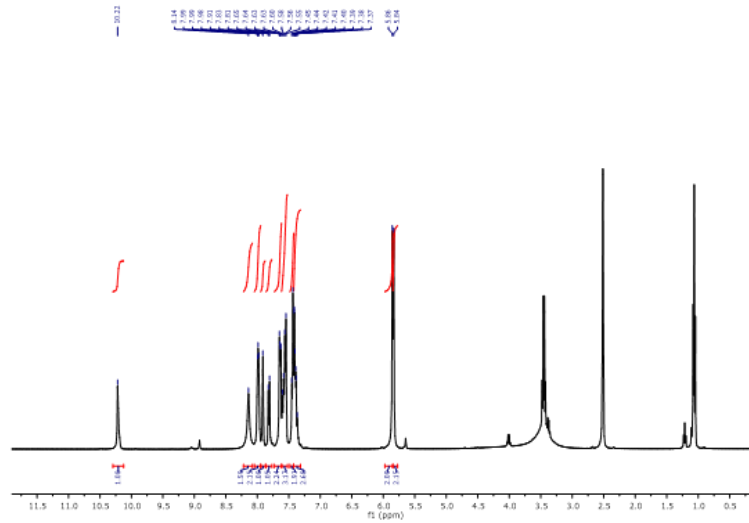


Şekil 4.1.2. 3. 1b Tuzunun FTIR grafiği

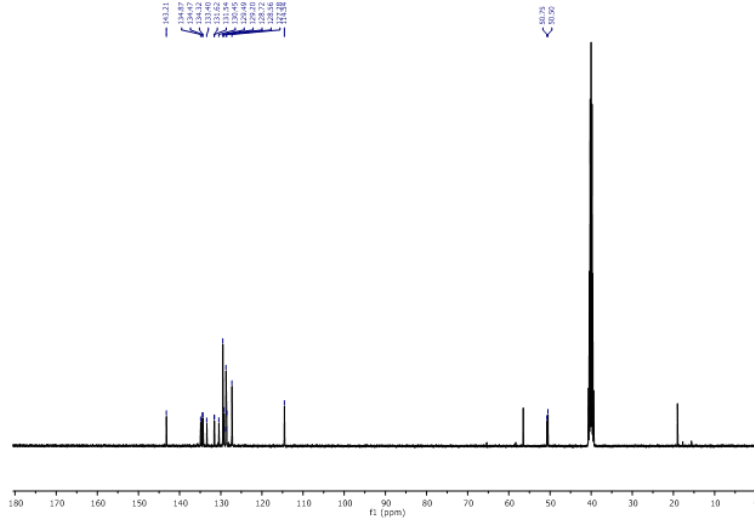
4.1.3. 1c Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.3. 6, Şekil 4.1.3. 2, ve Şekil 4.1.3. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

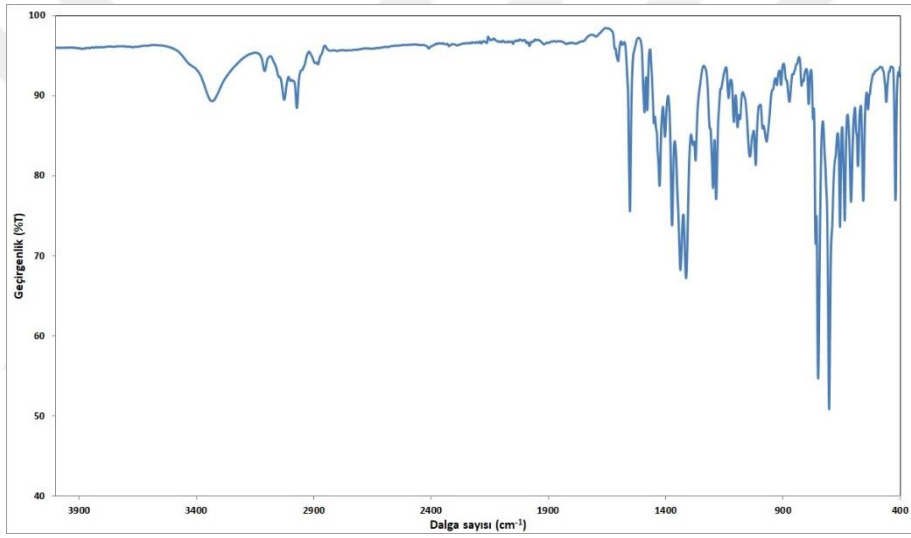
Verim: % 76 (0.97 g); e.n.: 177-178 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1553 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3327 cm^{-1}
 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ 5.84 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 5.86 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.39 ve 7.98 (m, 13H, Ar- H); 7.99 ve 8.14 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 11.22 (2- CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ 50.5 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$); 50.8 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.5, 127.3, 128.6, 128.7, 129.2, 129.5, 131.5, 134.3 ve 134.5 (Ar- C); 143.2 (2- CH)



Şekil 4.1.3. 1. 1c Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.3. 2. 1c Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği

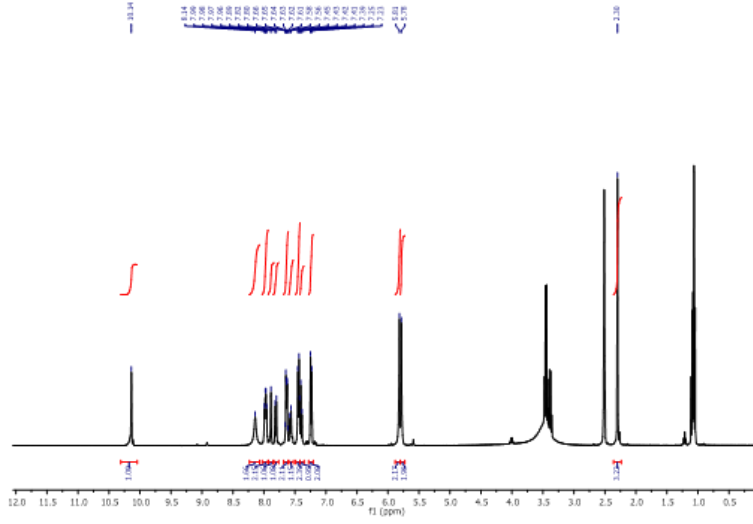


Şekil 4.1.3. 3. 1c Tuzunun FTIR grafiği

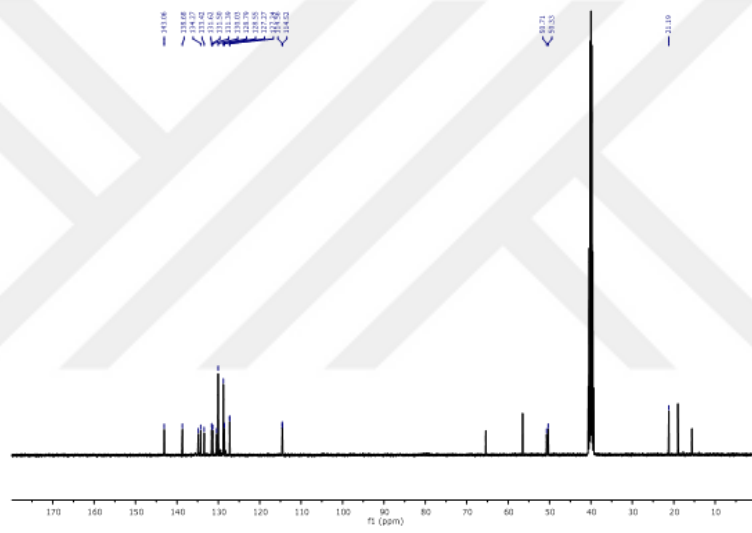
4.1.4. 1d Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.4. 7, Şekil 4.1.4. 2, ve Şekil 4.1.4. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

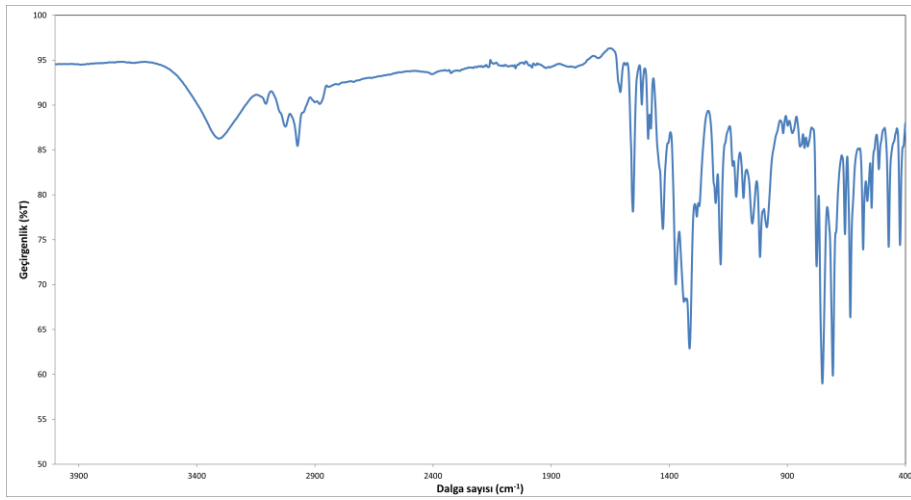
Verim: % 79 (0.50 g); e.n.: 109-110 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1554 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3316 cm^{-1}
 ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), δ 2.30 (s, 3H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)$); 5.78 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)$); 5.81 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.23 ve 7.99 (m, 12H, Ar-H); 8.14 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 10.14 (2-CH). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-d_6), δ 21.2 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)$); 50.3 ($\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)$); 50.7 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.5, 114.6, 127.2, 127.3, 128.6, 128.8, 130.0, 130.4, 131.4, 131.5, 131.6, 133.4, 134.3, 134.9 ve 138.7 (Ar-C); 143.1 (2-CH)



Şekil 4.1.4. 4. 1d Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.4. 5. 1d Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği

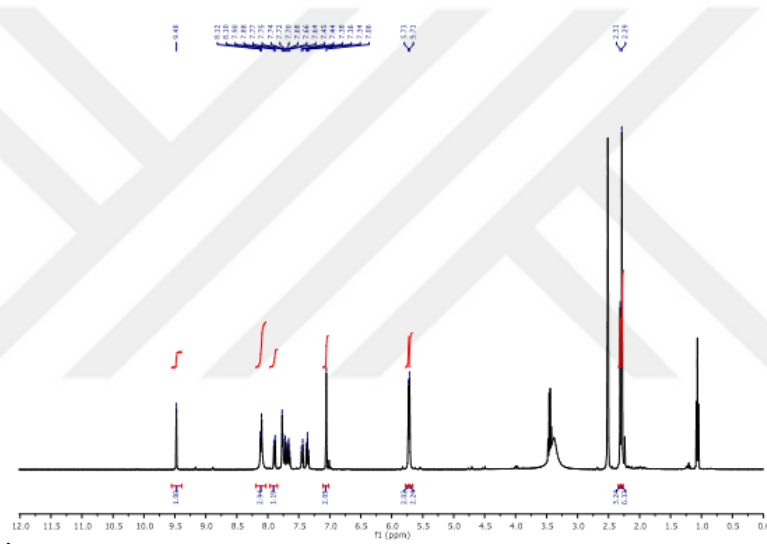


Şekil 4.1.4. 6. 1d Tuzunun FTIR grafiği

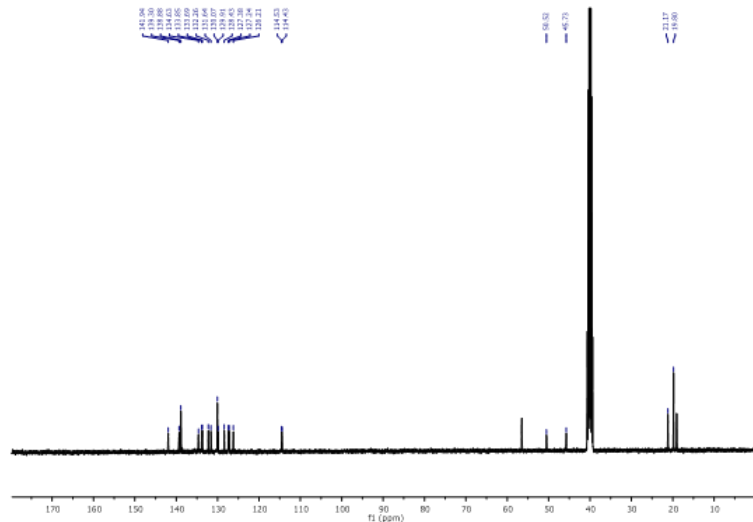
4.1.5. 1e Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.5. 8, Şekil 4.1.5. 2, ve Şekil 4.1.5. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

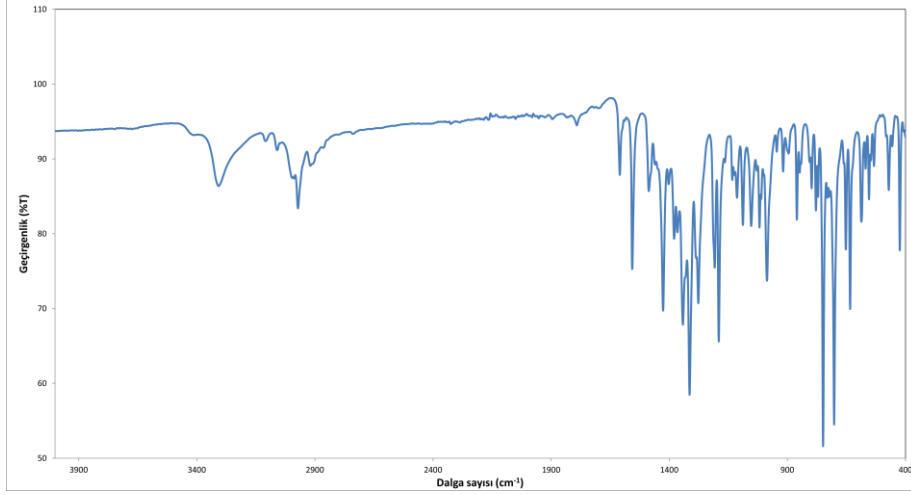
Verim: % 86 (0.55 g); e.n.: 245-246 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1557 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3311 cm^{-1} . ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ 2.29 ve 2.31 (s, 9H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_3$); 5.71 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_3$); 5.73 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.06 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_3$); 7.34 ve 7.90 (m, 10H, Ar-**H**); 8.10 ve 8.12 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 9.48 (2-**CH**). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ 19.8 ve 21.2 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_3$); 45.7 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_3$); 50.5 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.4, 114.5, 126.2, 127.2, 127.4, 128.4, 129.9, 130.1, 131.6, 132.3, 133.7, 133.9, 134.6, 138.9 ve 139.3 (Ar-**C**); 141.9 (2-**CH**)



Şekil 4.1.5. 7. 1e Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.5. 8. 1e Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği

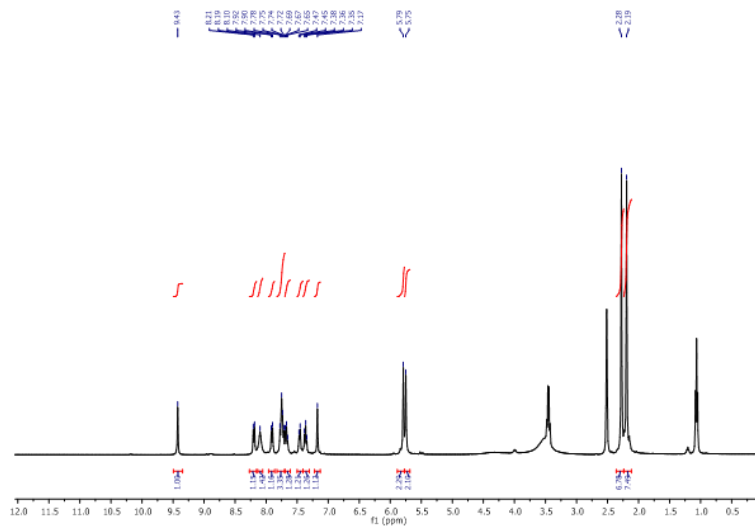


Şekil 4.1.5. 9. 1e Tuzunun FTIR grafiği

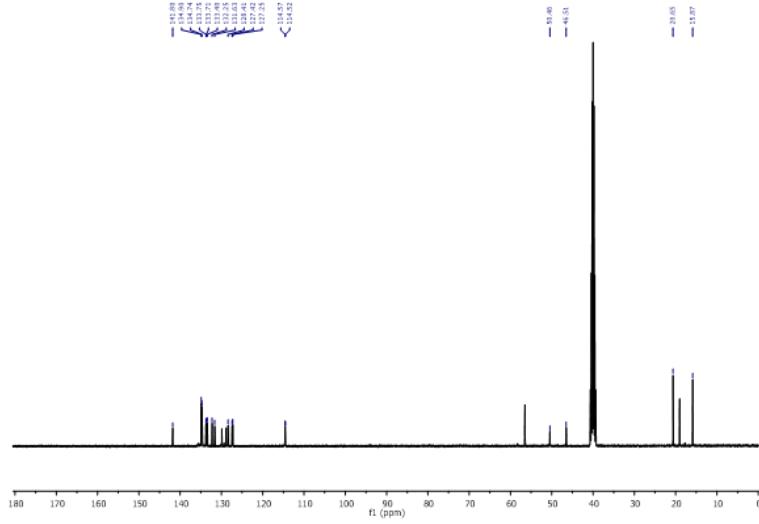
4.1.6. 1f Tuzunun Karakterizasyonu

NMR ve FTIR sonuçları sırasıyla Şekil 4.1.6. 9, Şekil 4.1.6. 2, ve Şekil 4.1.6. 3'te çizgi grafiği halinde gösterilmiştir.

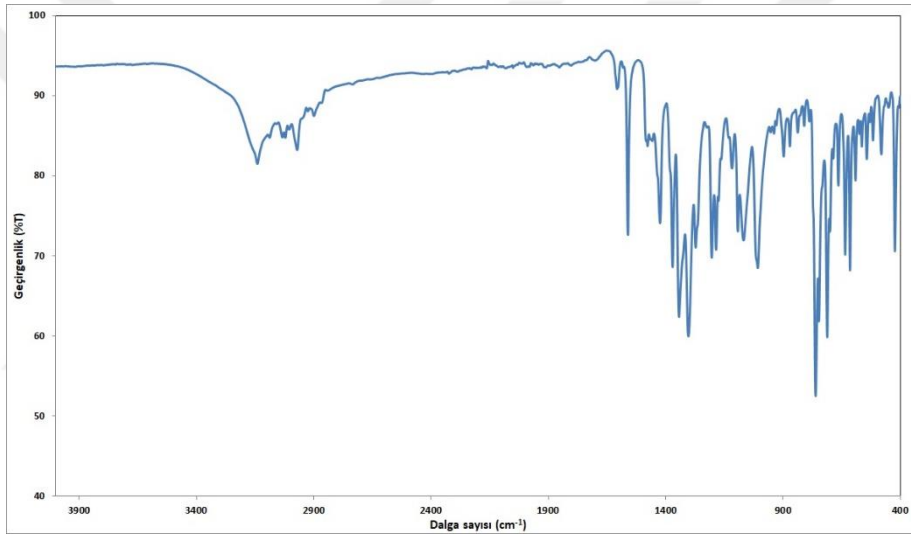
Verim: % 76 (0.97 g); e.n.: 224-225 °C; renk: beyaz; $\nu(\text{CN})$: 1561 cm^{-1} ; $\nu(\text{OH})$: 3141 cm^{-1}
 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ 2.19 ve 2.28 (s, 12H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_4$); 5.75 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_4$); 5.79 (s, 2H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$); 7.17 (s, 1H, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_4$); 7.35 ve 7.92 (m, 8H, Ar-**H**); 8.10 ve 8.20 (s, d, 2H, $J= 8.1 \text{ Hz}$, $-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{B}(\text{OH})_2$) 9.43 (2-**CH**).
 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6), δ 15.9 ve 20.7 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_4$); 46.5 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}(\text{CH}_3)_4$); 50.5 ($-\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$); 114.5, 114.6, 127.3, 132.3, 134.3, 133.7, 133.8, 134.7 ve 134.9 (Ar-**C**); 141.8 (2-**CH**).



Şekil 4.1.6. 1. 1f Tuzunun Proton (^1H) NMR grafiği



Şekil 4.1.6. 2. 1f Tuzunun Karbon (^{13}C) NMR grafiği



Şekil 4.1.6. 3. 1f Tuzunun FTIR grafiği

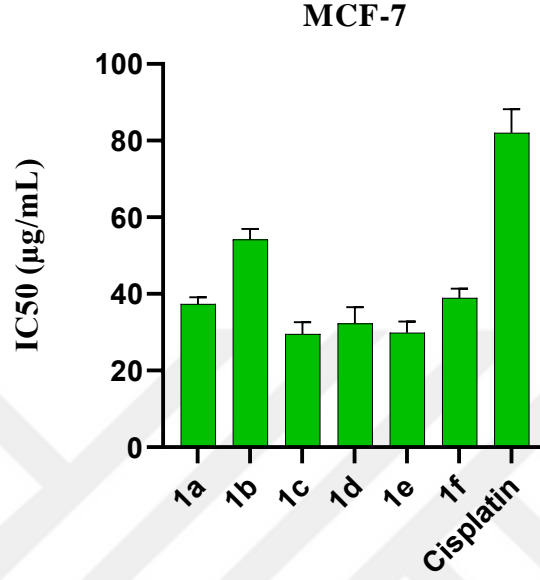
4.2. Fenilboronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin *in vitro* Hücre Kültür Sisteminde Antikanser Özelliklerinin Belirlenmesi

Fenilboronik asit fonksiyoneli NHC öncüllerinin antikanser özellikleri ISO-10993-5 uluslararası standartlarına göre değerlendirilmiştir. NHC öncüllerinin MCF-7, A549 ve HCT116 hücre hatları üzerindeki 24 saatlik direkt sitotoksosite belirlenmiştir.

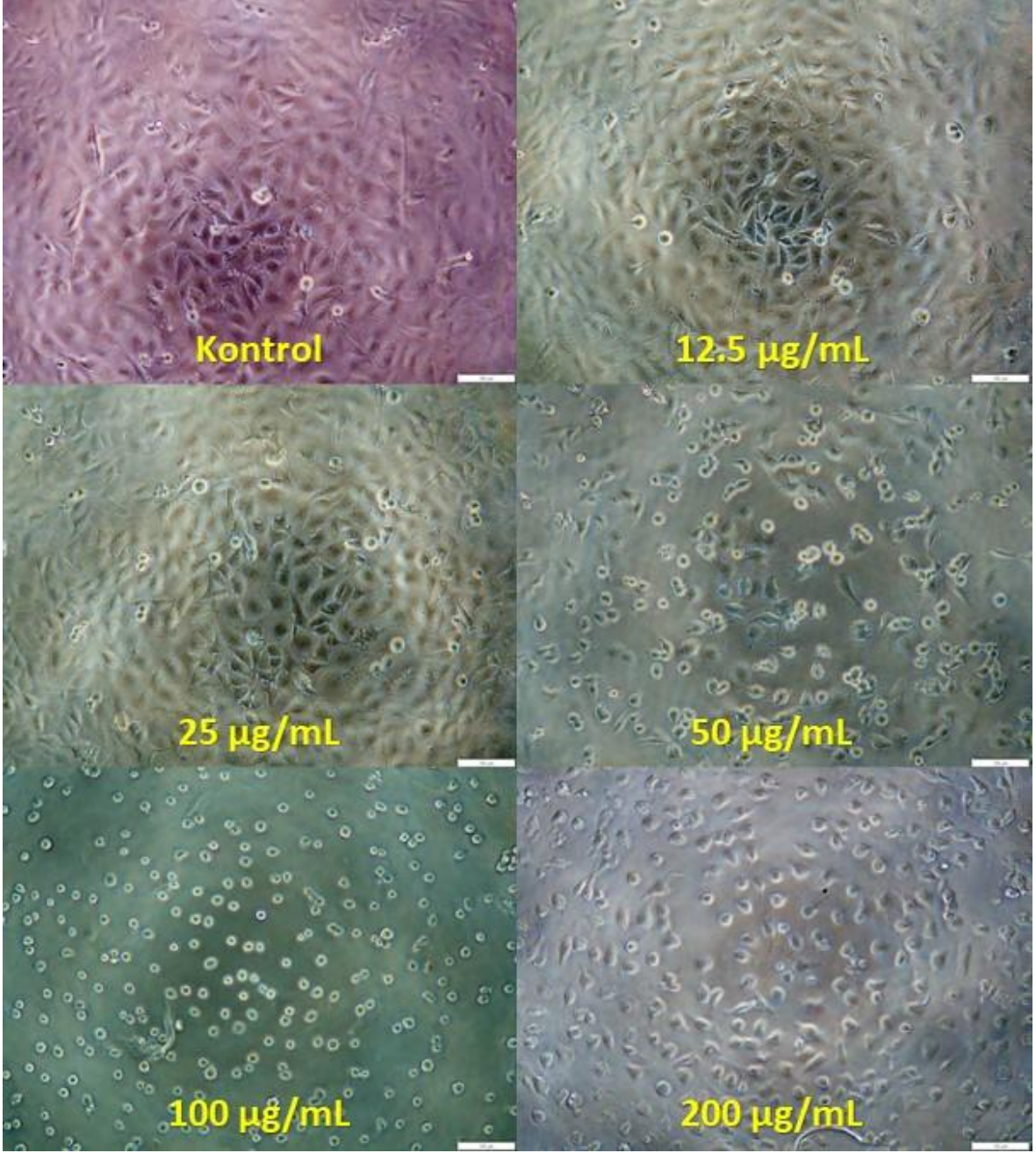
4.2.1. MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerinde Etkisi

MCF-7 hücreleri üzerindeki test sonuçlarına göre, pozitif kontrole kıyasla (canlılık değeri 100 ± 2.11) **1a-f** tuzlarının ve cisplatin ilacı için IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değeri cinsinden sırasıyla 37.40 ± 1.70 , 54.17 ± 2.77 , 29.57 ± 3.04 , 32.27 ± 4.24 , 29.90 ± 2.89 , 38.97 ± 2.44 ve 82.02 ± 6.19

olarak bulunmuştur. Bu değerlerden yola çıkılarak yapılan sütun grafiğinde (Şekil 4.2.1. 1) bütün NHC öncüllerinin cisplatin ilacından daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek etki gösterdiği görülmüş olup en yüksek etkinliği, en düşük konsantrasyon değeriyle MCF-7 hücre hattı üzerinde **1e** tuzu göstermiştir.

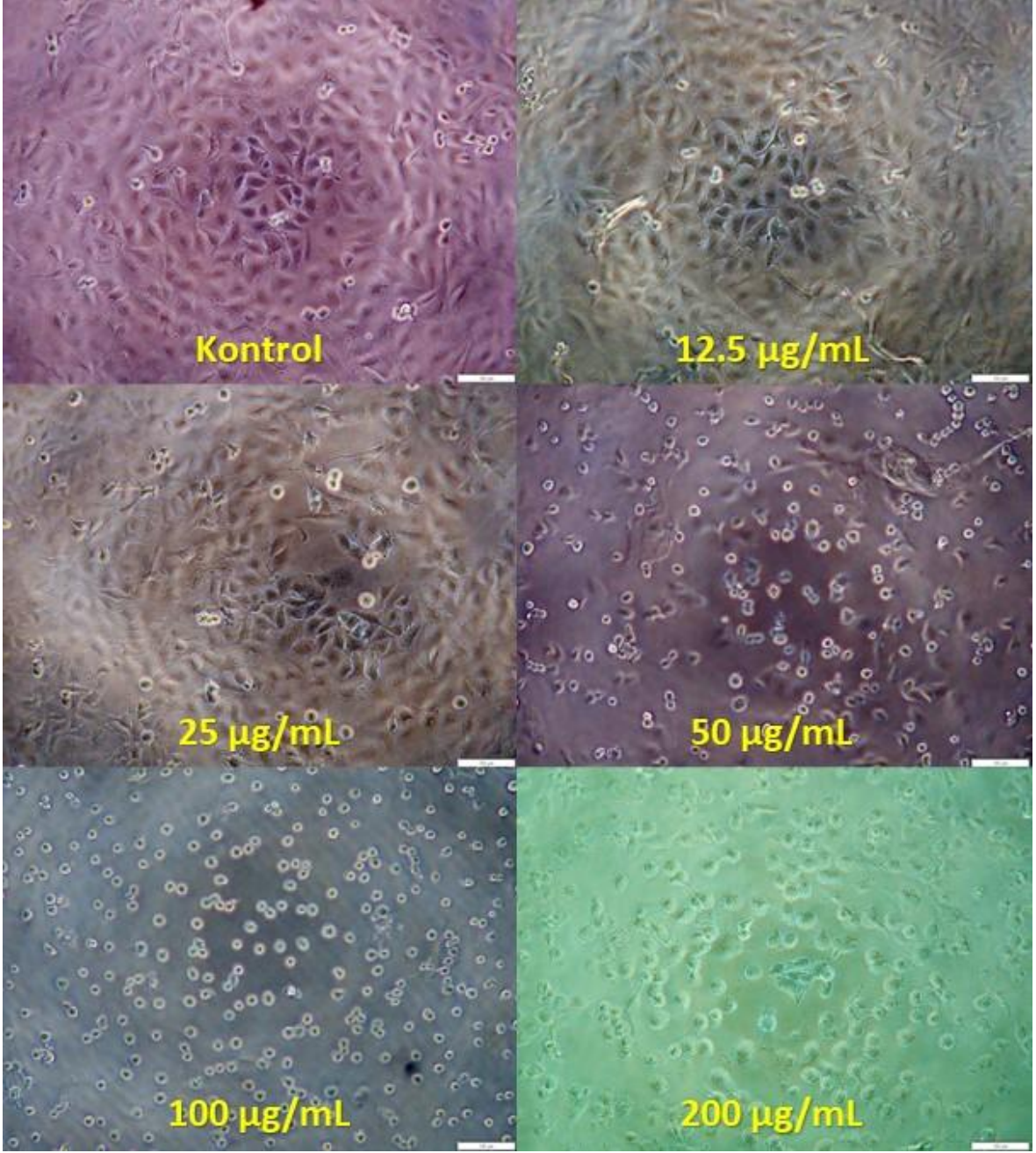


Şekil 4.2.1. 1. Tuzların MCF-7 hücre hattı üzerinde IC50 (µg/mL) değerleri



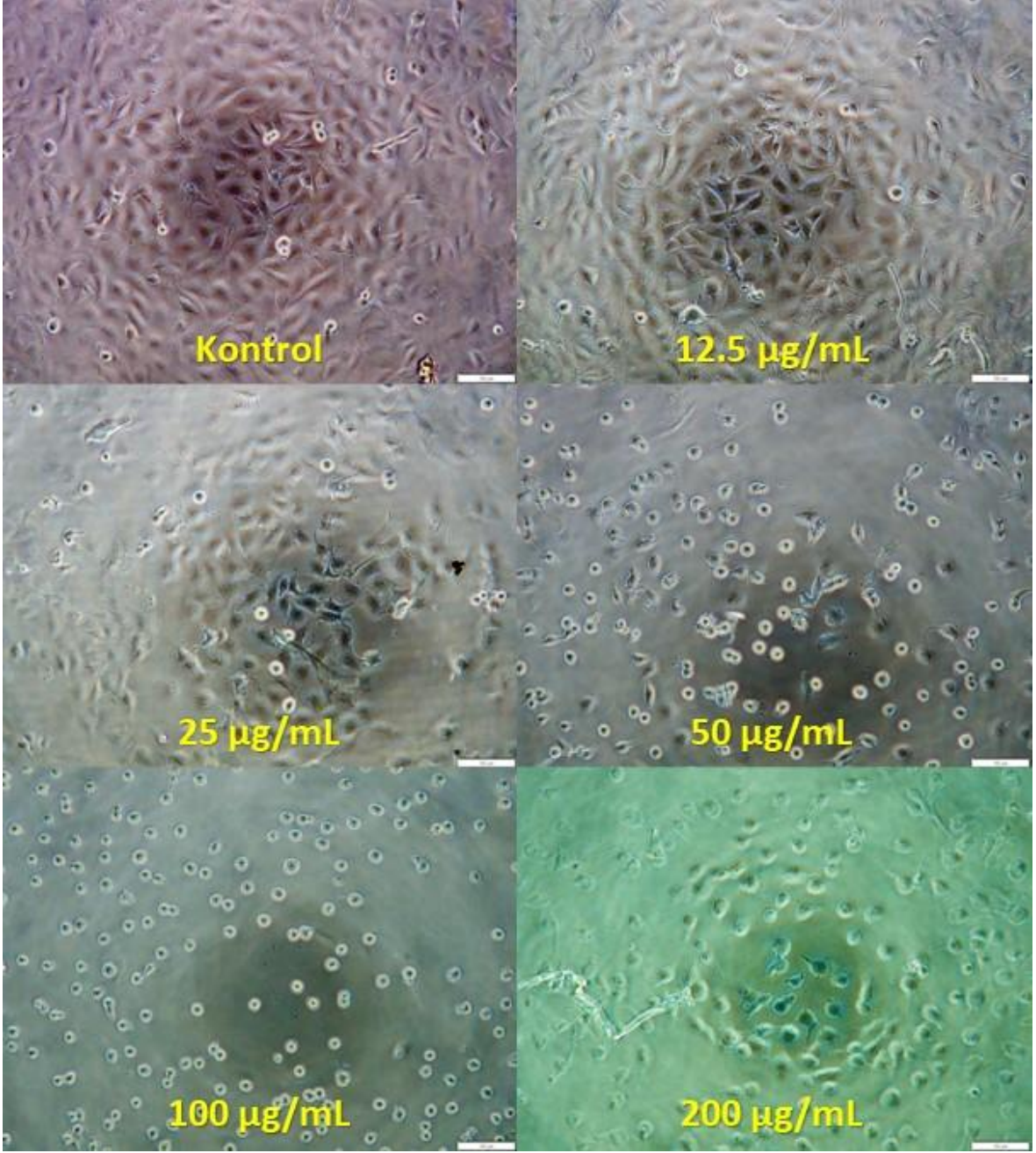
Şekil 4.2.1. 2 1a tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

Yukarıdaki şekilde (Şekil 4.2.1.2.) görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapılar görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan MCF-7 hücrelerinin apoptoza girdiğini göstermektedir.



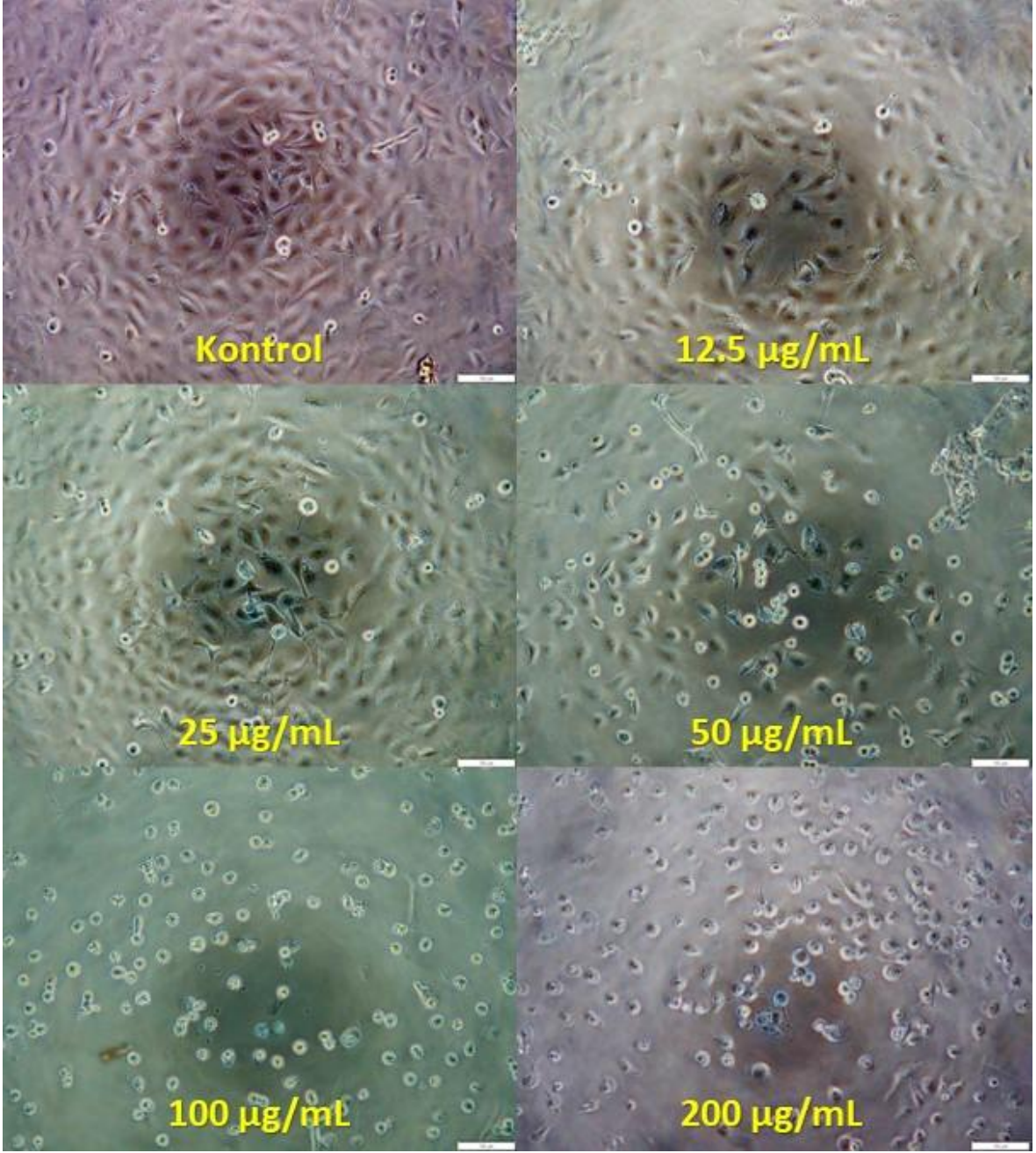
Şekil 4.2.1. 3 1b tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

Farklı konsantrasyonlarda küresel yapıdaki hücre ölümleri Şekil 4.2.1.3'te görülmektedir. Konsantrasyon arttıkça küresel yapı sayısı artmaktadır. Ayrıca konsantrasyon değişiminde ışığın kırılma miktarı değiştiğinden mikroskop altında farklı renklerde görülmektedir.



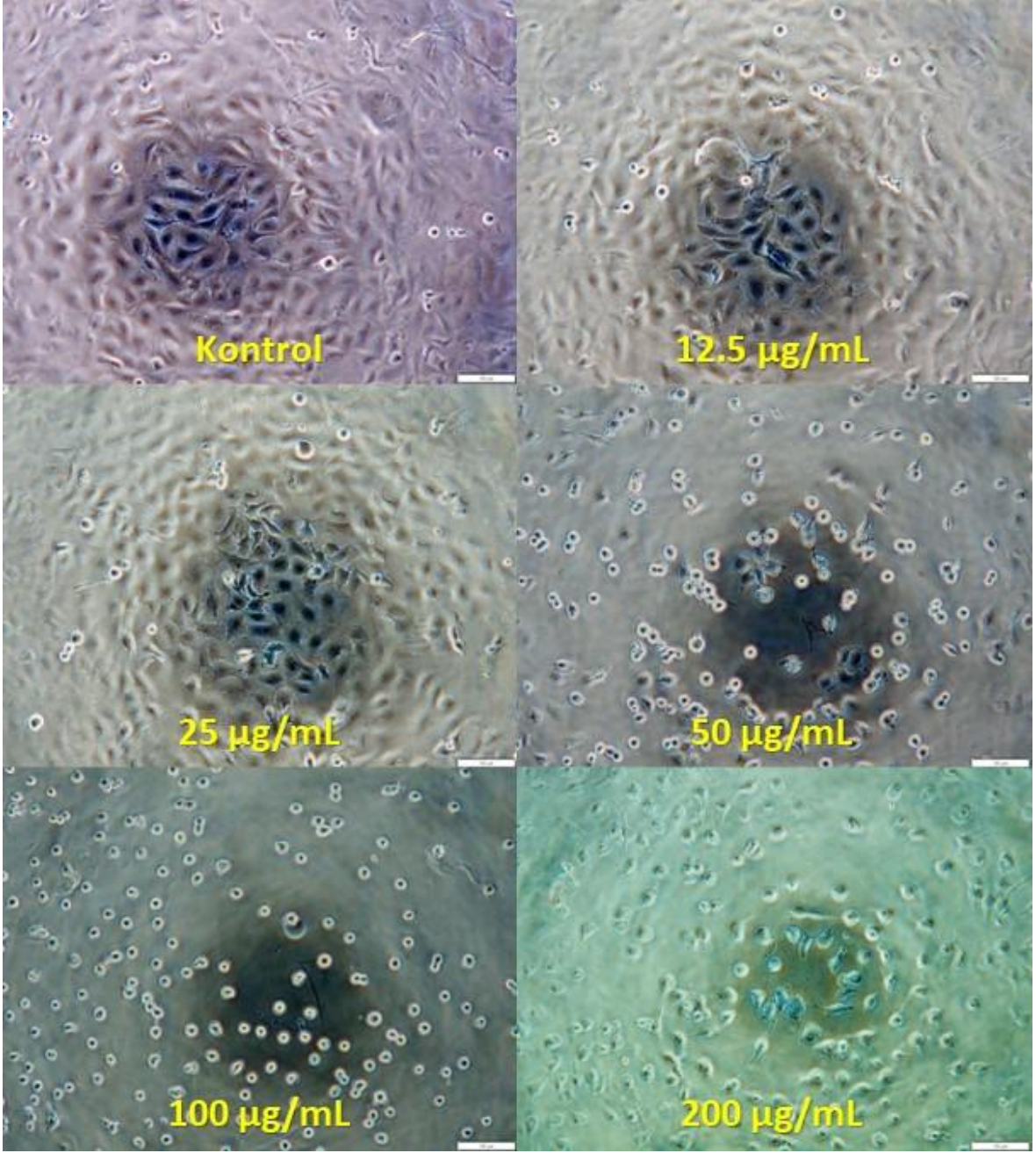
Şekil 4.2.1. 4 1c tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

Görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan MCF-7 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



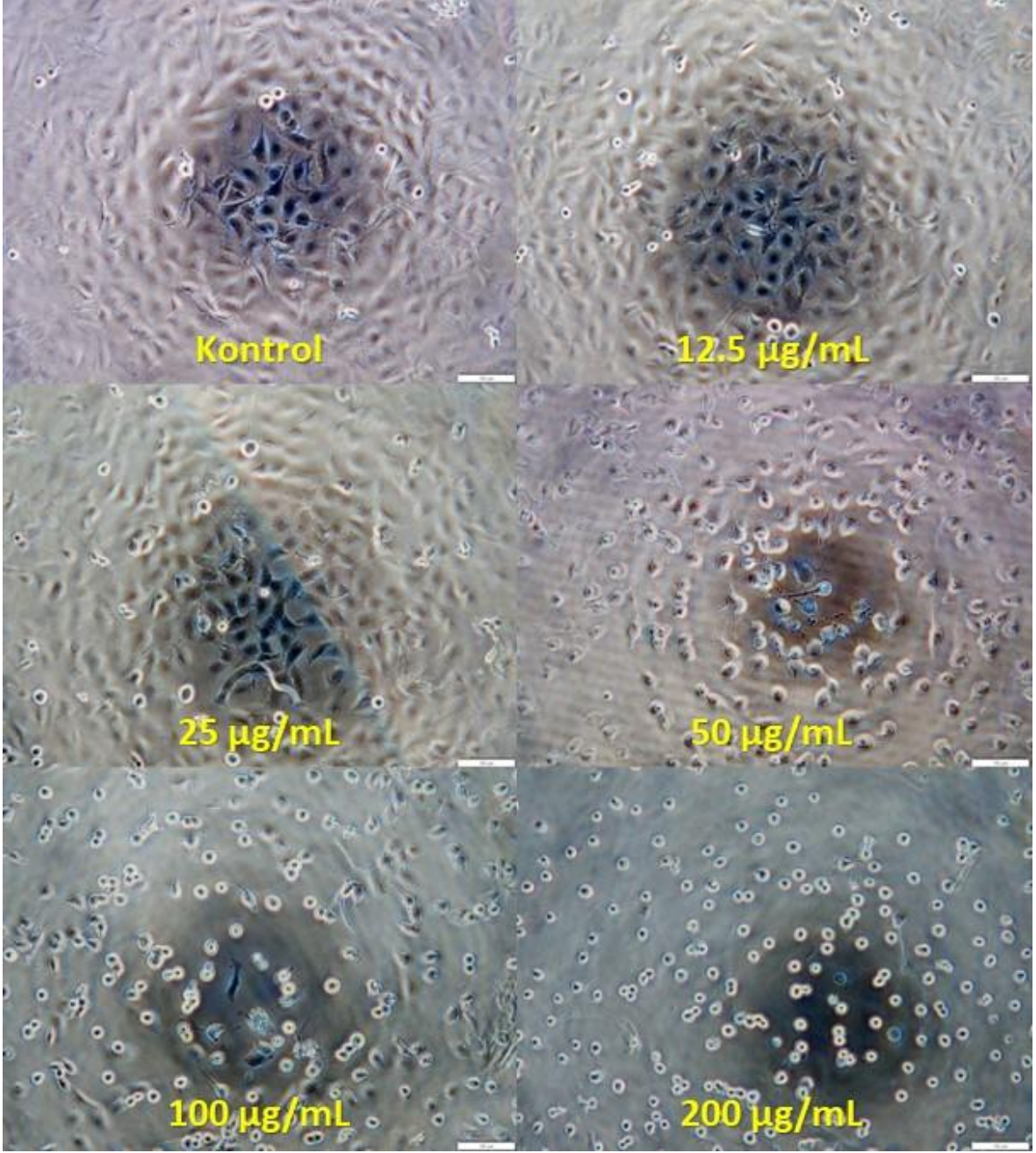
Şekil 4.2.1. 5 1d tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

Yukarıdaki Şekil 4.2.1.5'teki gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan MCF-7 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



Şekil 4.2.1. 6 1e tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

Hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür (Şekil 4.2.1.6). Bu küresel yapılar yapışan hücre olan MCF-7 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.

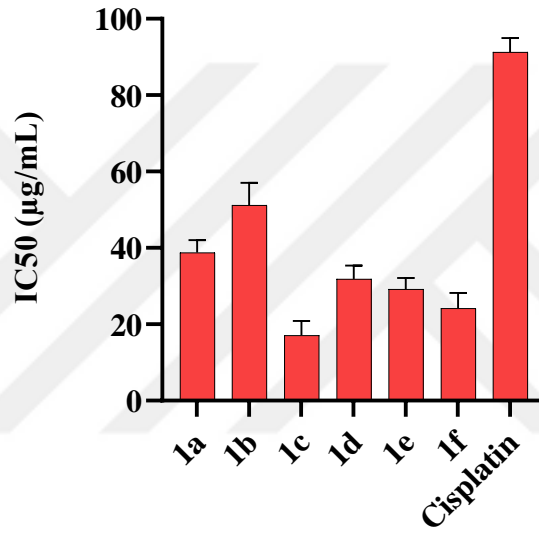


Şekil 4.2.1. 7 If tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri.

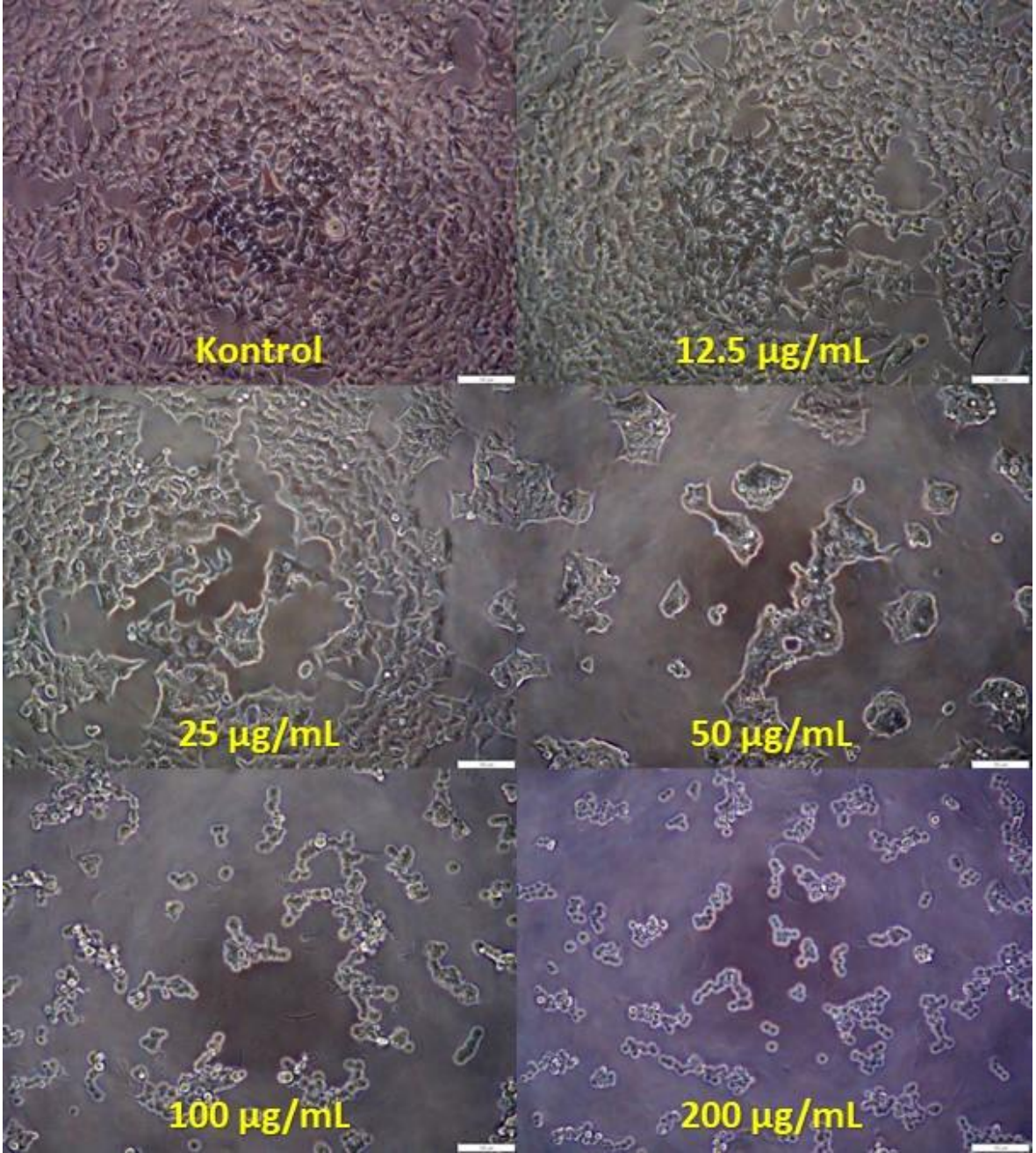
İnvert mikroskopta alınan hücrelerin görüntülerinde morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan MCF-7 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.

4.2.2. A549 Hücre Hattı Üzerinde Etkisi

A549 hücreleri üzerindeki test sonuçlarına göre, pozitif kontrole kıyasla (canlılık değeri 100 ± 4.96) **1a-f** tuzlarının ve cisplatin ilacı için IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ değeri cinsinden sırasıyla 38.83 ± 3.17 , 51.17 ± 5.84 , 17.14 ± 3.72 , 31.86 ± 3.53 , 29.24 ± 2.86 , 24.18 ± 3.99 ve 91.31 ± 3.65 olarak bulunmuştur. Bu değerlerden yola çıkılarak yapılan sütun grafiğinde bütün tuzlar cisplatin ilacından daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek etki gösterdiği görülmüş olup en yüksek etkinliği, en düşük konsantrasyon değeriyle A549 hücre hattı üzerinde **1c** tuzu göstermiştir.

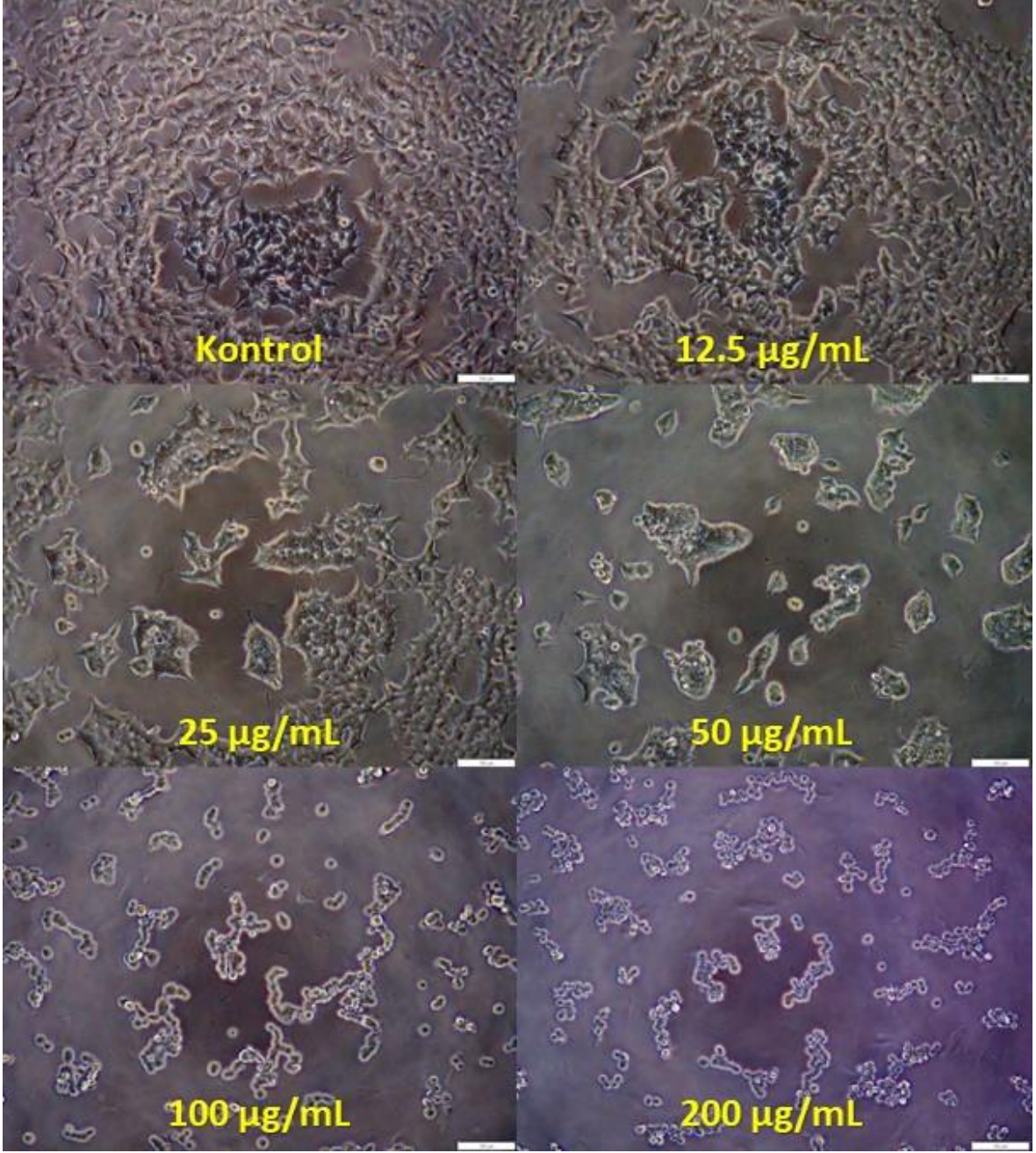


Şekil 4.2.2. 1 Tuzların A549 hücre hattı üzerinde IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri



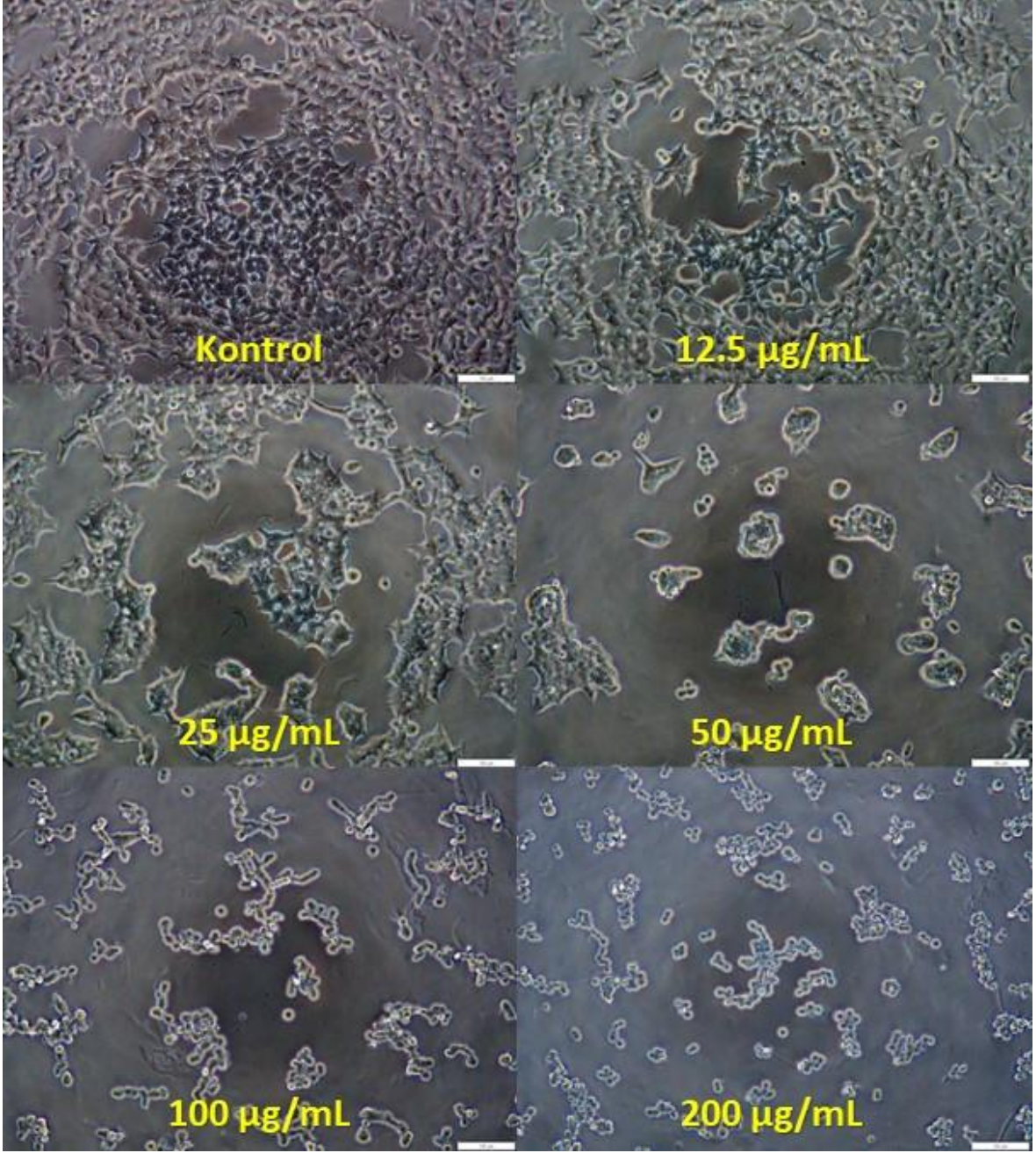
Şekil 4.2.2. 2 1a tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Yukarıdaki şekilde (Şekil 4.2.2.2.) görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan A549 hücrelerinin apoptoza girdiğini göstermektedir.



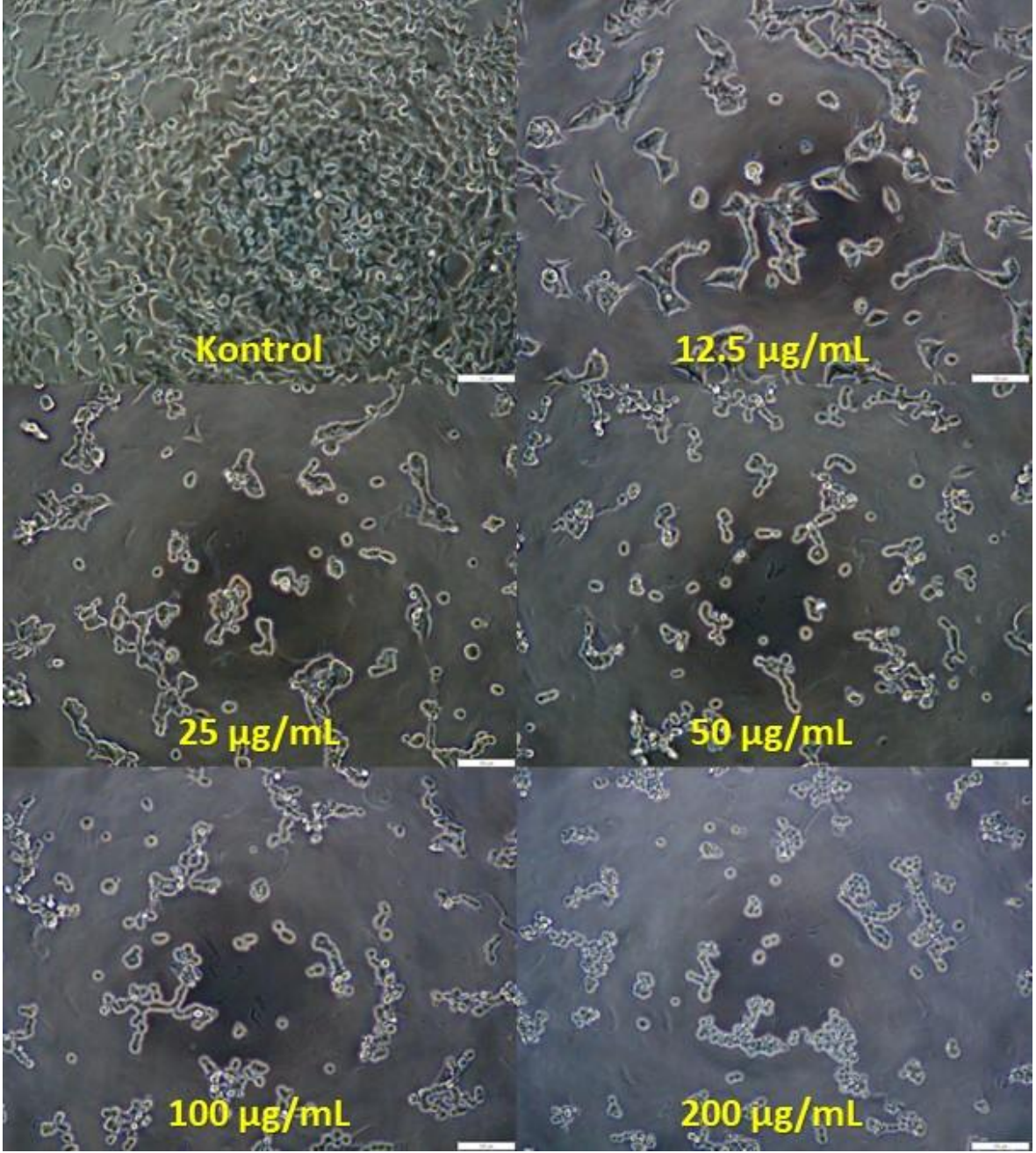
Şekil 4.2.2. 3 1b tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Farklı konsantrasyonlarda küresel yapıdaki hücre ölümleri Şekil 4.2.2.3'te görülmektedir. Konsantrasyon arttıkça küresel yapı sayısı artmaktadır. Ayrıca konsantrasyon değişiminde ışığın kırılma miktarı değiştiğinden mikroskop altında farklı renklerde görülmektedir.



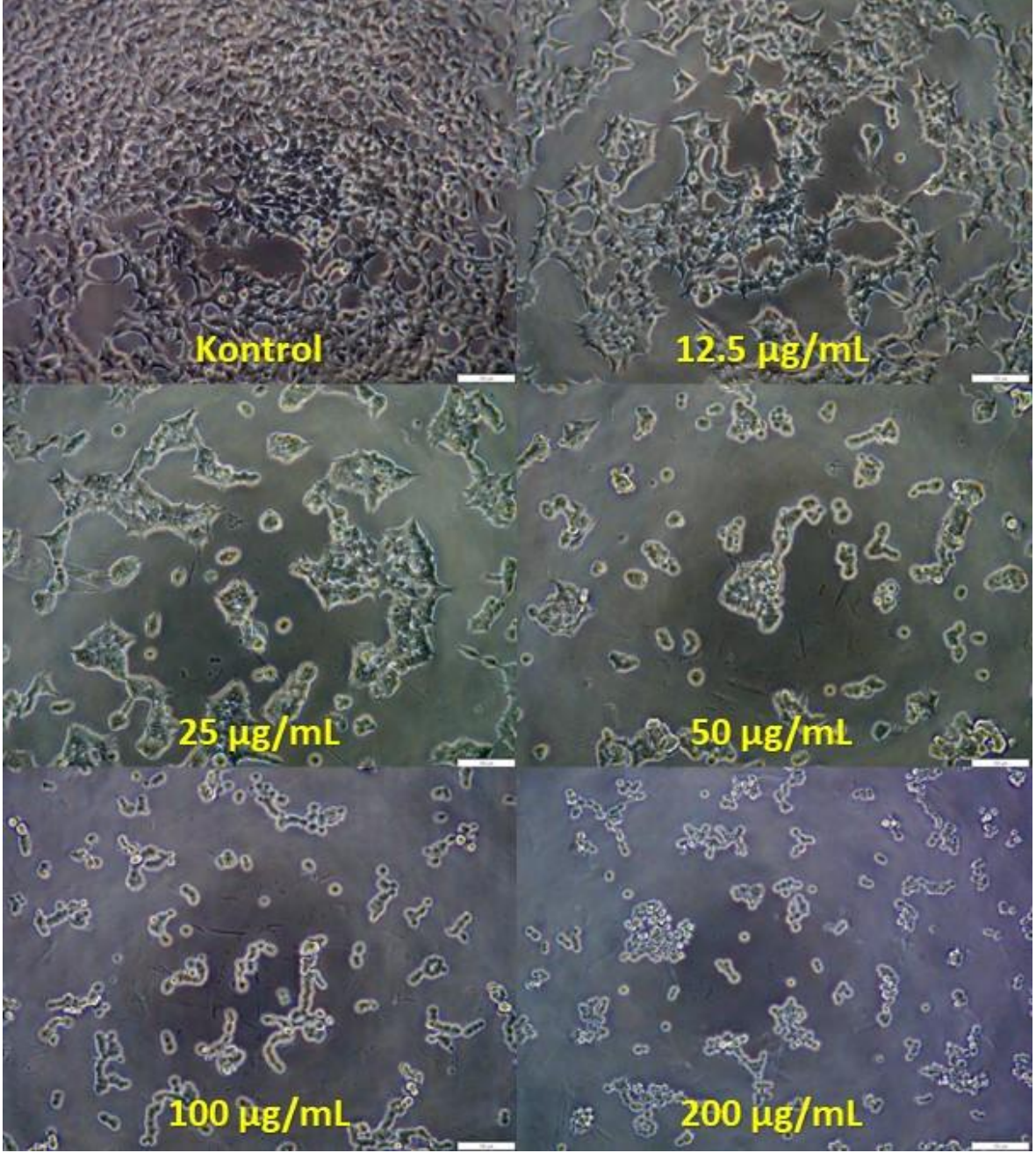
Şekil 4.2.2. 4 1c tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan A549 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



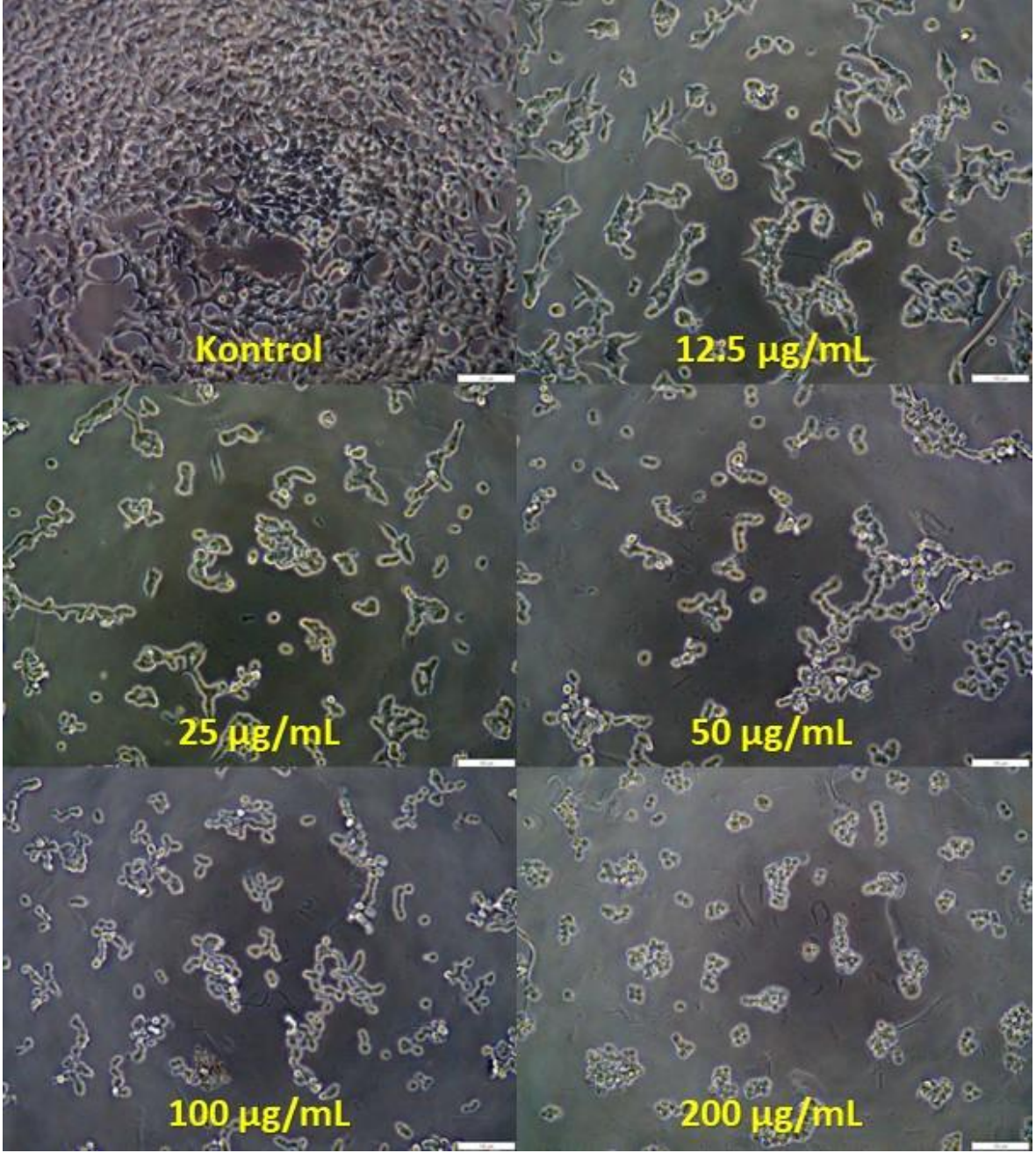
Şekil 4.2.2. 5 1d tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Yukarıdaki Şekil 4.2.2.5'teki gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan A549 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



Şekil 4.2.2. 6 1e tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür (Şekil 4.2.2.6). Bu küresel yapılar yapışan hücre olan A549 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.

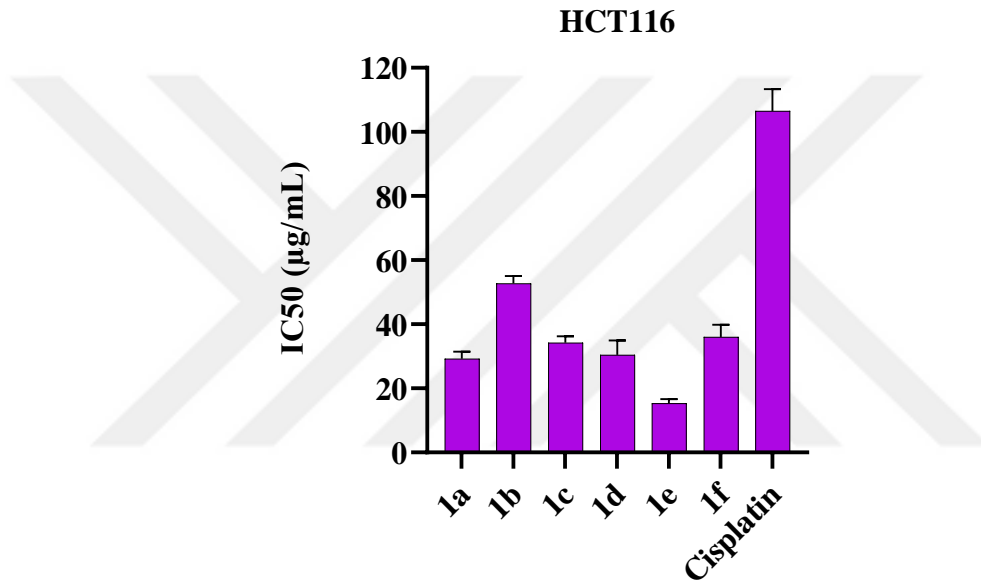


Şekil 4.2.2. 7 1f tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun A549 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

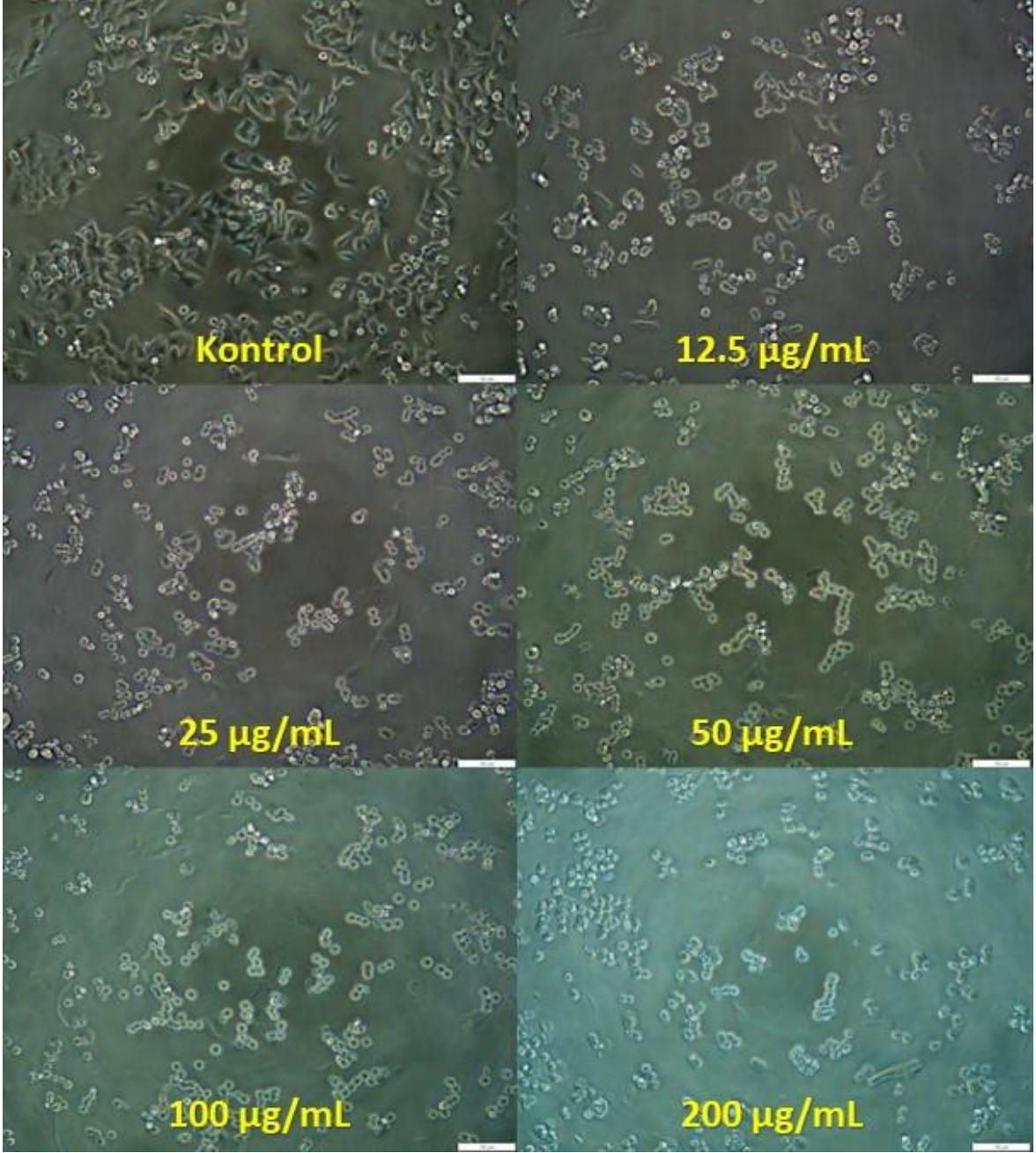
İnvert mikroskopta alınan hücrelerin görüntülerinde morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan A549 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.

4.2.3. HCT116 Hücre Hattı Üzerinde Etkisi

HCT116 hücreleri üzerindeki test sonuçlarına göre, pozitif kontrole kıyasla (canlılık değeri 100 ± 2.79) **1a-f** tuzlarının ve cisplatin ilacı için IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ değeri sırasıyla 29.20 ± 2.33 , 52.78 ± 2.22 , 34.29 ± 1.97 , 30.42 ± 4.52 , 15.31 ± 3.81 , 36.04 ± 1.38 ve 106.57 ± 6.77 olarak bulunmuştur. Bu değerlerden yola çıkılarak yapılan sütun grafiğinde, bütün tuzlar cisplatin ilacından daha düşük konsantrasyonlarda daha yüksek etki gösterdiği görülmüş olup en yüksek etkinliği, en düşük konsantrasyon değeriyle HCT116 hücre hattı üzerinde **1e** tuzu göstermiştir.

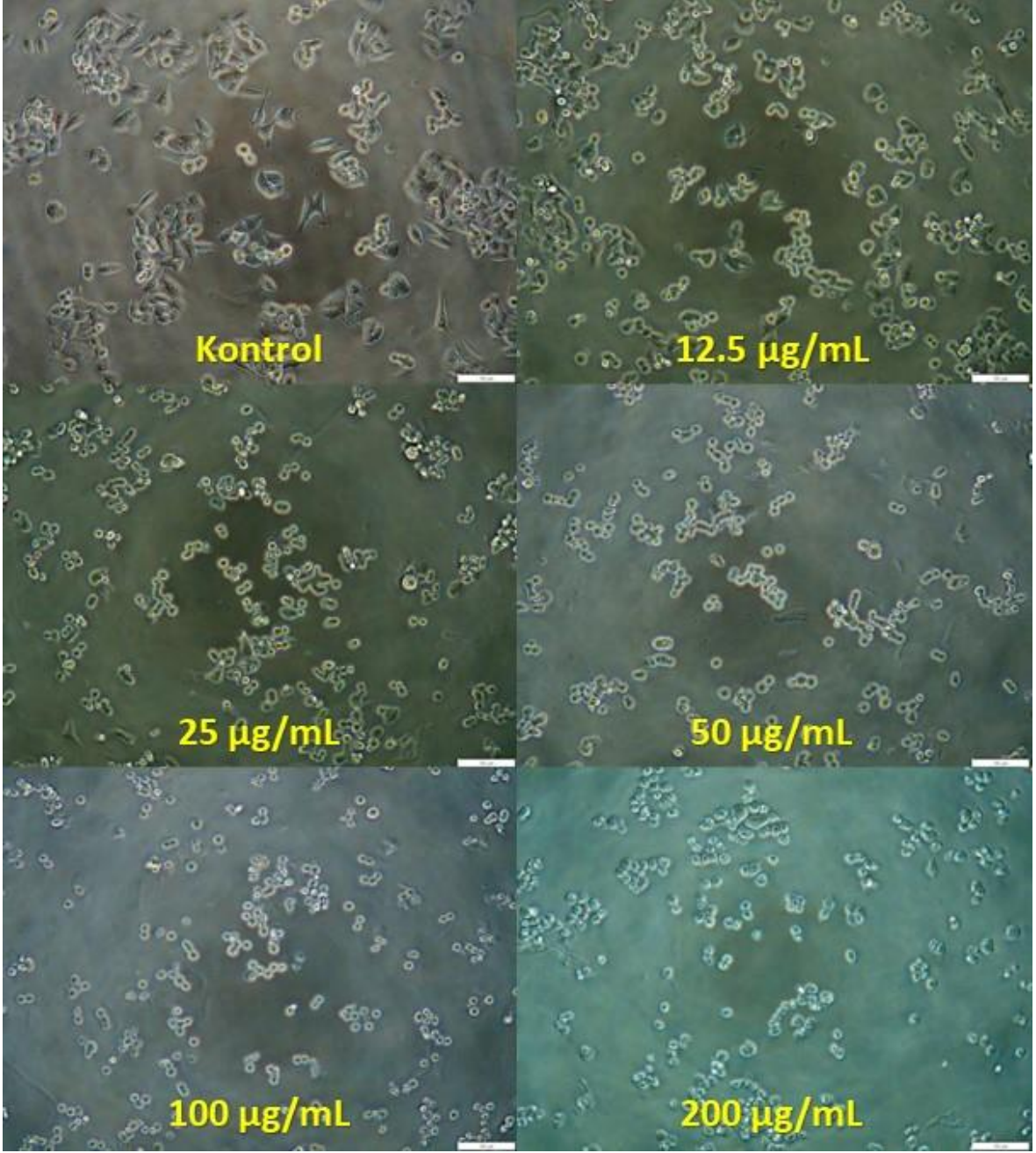


Şekil 4.2.3. 1 Tuzların HCT116 hücre hattı üzerinde IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri



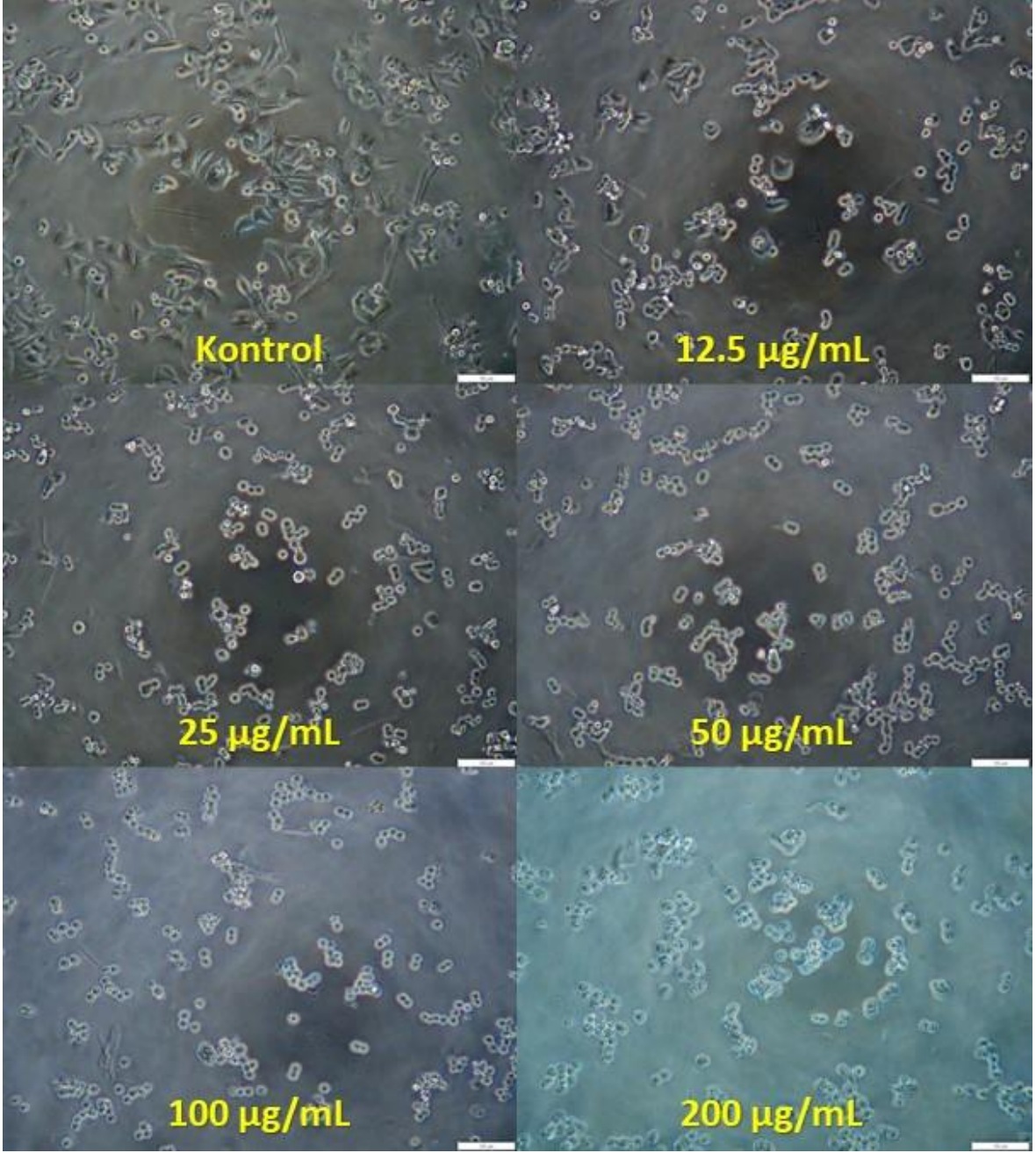
Şekil 4.2.3. 2 1a tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Yukarıdaki şekilde (Şekil 4.2.3.2.) görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan HCT116 hücrelerinin apoptoza girdiğini göstermektedir.



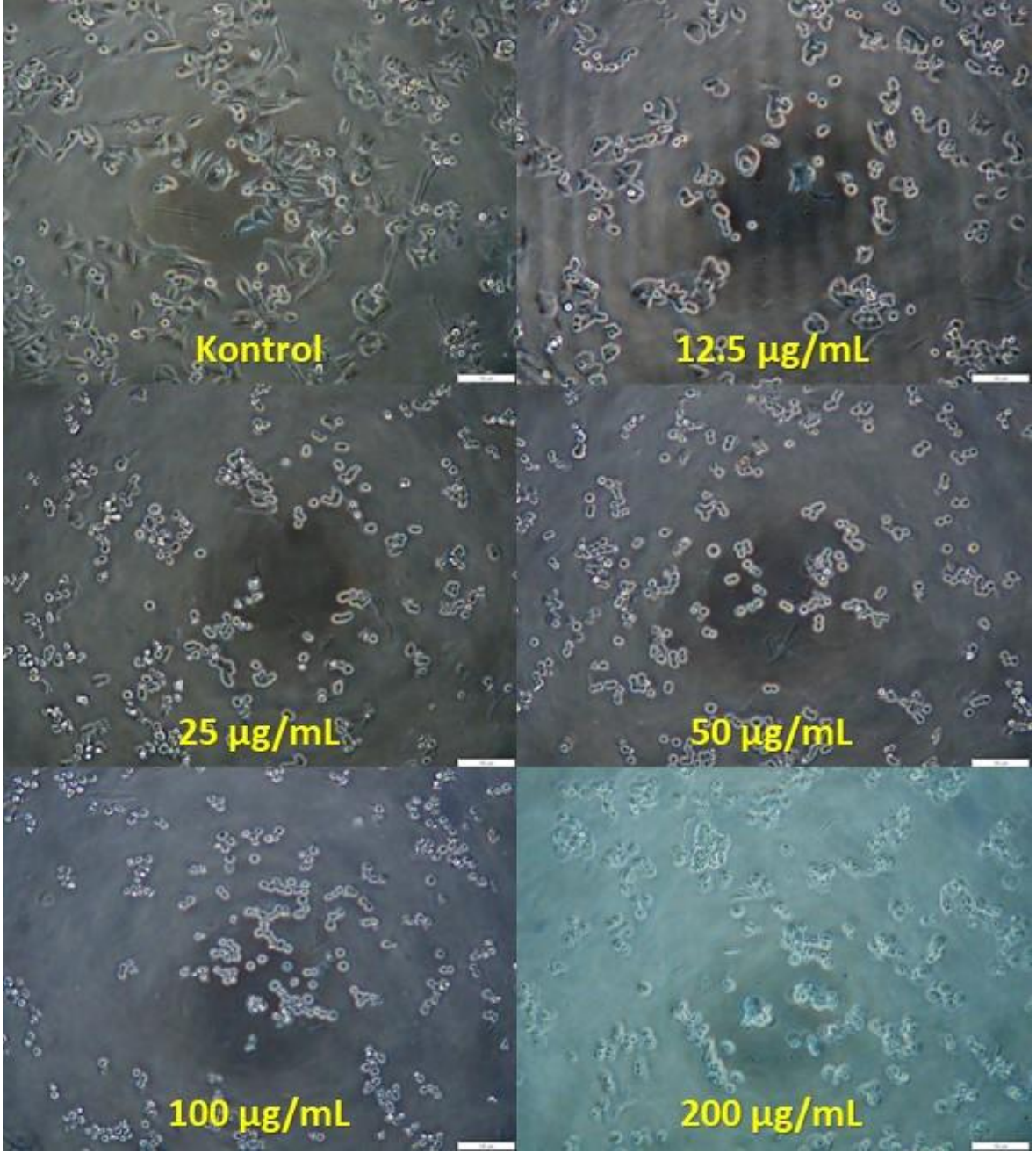
Şekil 4.2.3. 3 1b tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Farklı konsantrasyonlarda küresel yapıdaki hücre ölümleri Şekil 4.2.3.3'te görülmektedir. Konsantrasyon arttıkça küresel yapı sayısı artmaktadır. Ayrıca konsantrasyon değişiminde ışığın kırılma miktarı değiştiğinden mikroskop altında farklı renklerde görülmektedir.



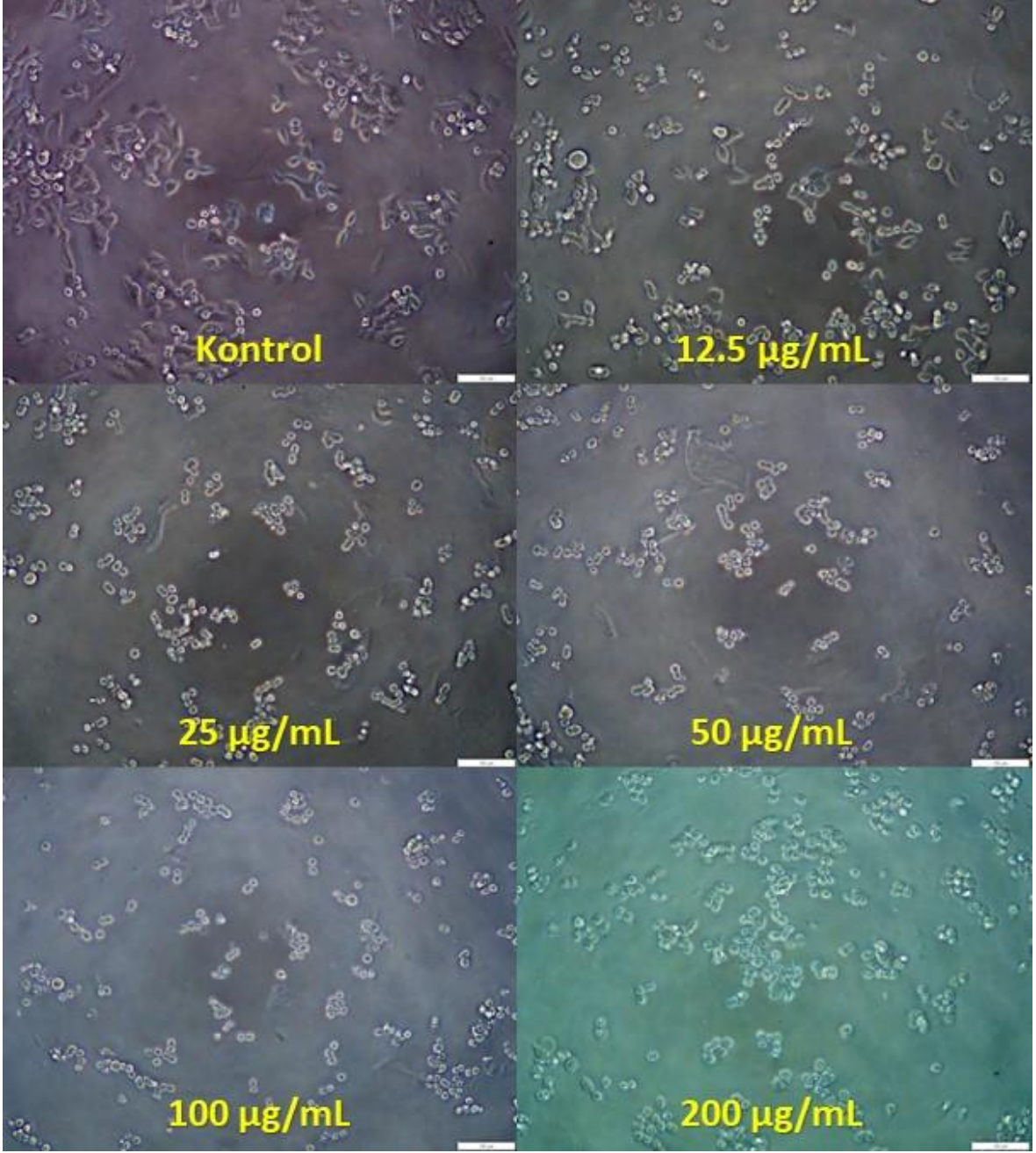
Şekil 4.2.3. 4 1c tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Görüldüğü gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan HCT116 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



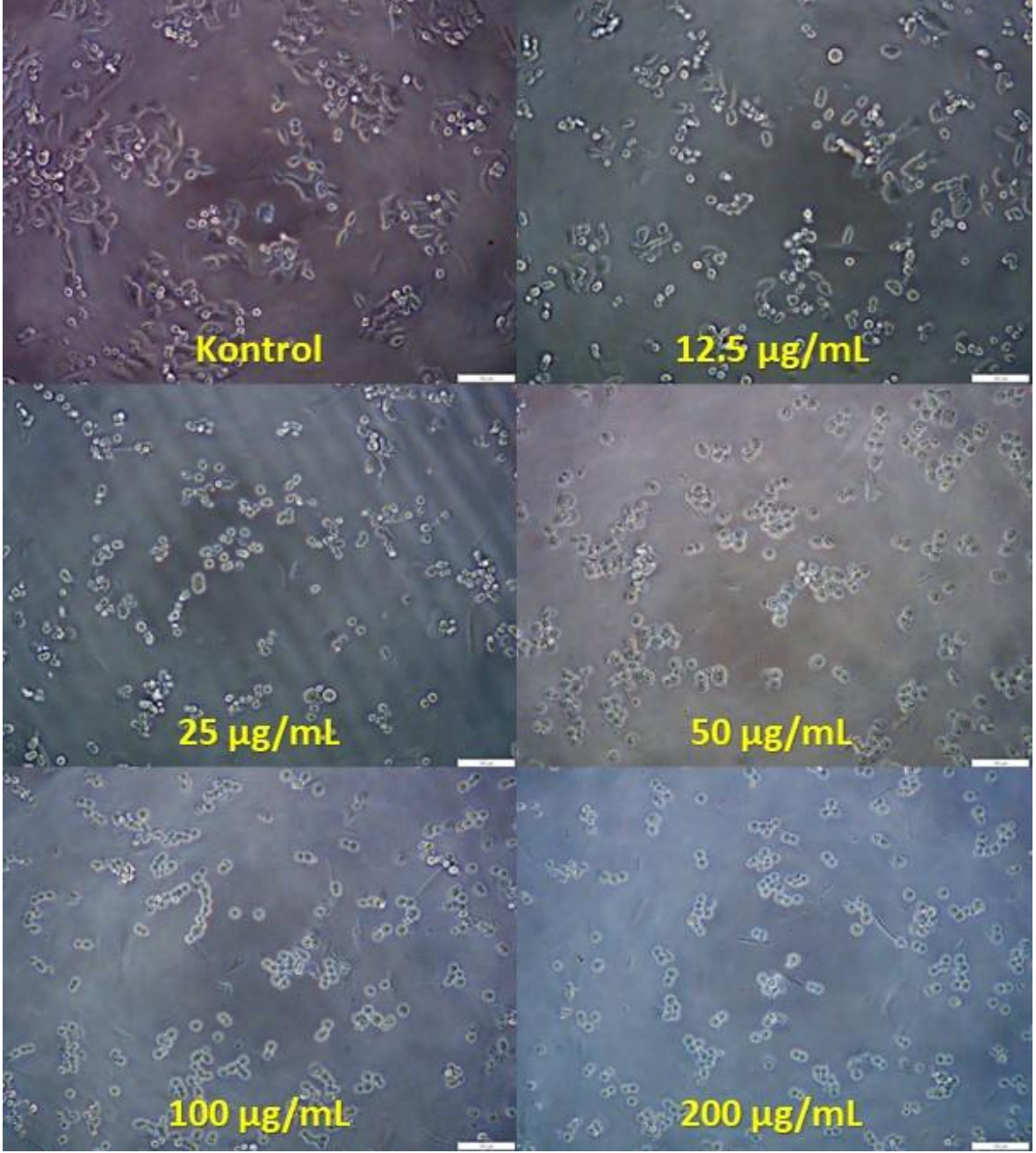
Şekil 4.2.3. 5 1d tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

Yukarıdaki Şekil 4.2.3.5'teki gibi hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan HCT116 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



Şekil 4.2.3. 6 1e tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

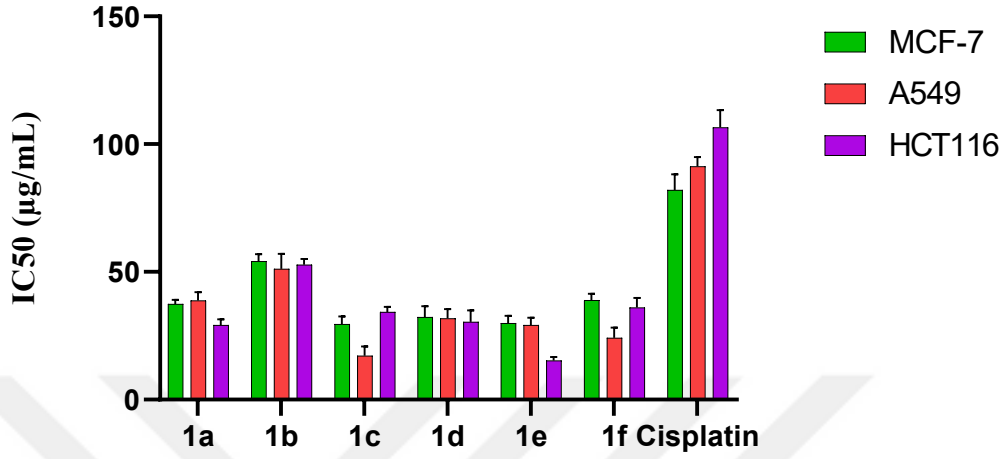
Hücrelerin morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür (Şekil 4.2.3.6). Bu küresel yapılar yapışan hücre olan HCT116 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözgen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.



Şekil 4.2.3. 7 1f tuzunun sırasıyla 12.5, 25, 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyonunun HCT116 hücreleri üzerine uygulanması sonucunda invert mikroskopta 200X büyütme ile görüntüleri

İnvert mikroskopta alınan hücrelerin görüntülerinde morfolojik yapısı kontrole kıyasla konsantrasyon arttığında hücre ölümlerini gösteren küresel yapıları görülmüştür. Bu küresel yapılar yapışan hücre olan HCT116 hücre hattı için spesifik olmayıp ölüm belirtisi göstermiştir. Konsantrasyon arttıkça hücrelerin bulunduğu besiyeri rengi değişmiş olup çözen ve tuzun ışığı kırma katsayısı etki etmiştir.

Şekil 4.2. 1.'deki grafikten yola çıkılarak **1c** tuzunun 3 hücre üzerinde ortalama olarak en düşük IC₅₀ değeri verdiği görülmüştür. Cisplatin ilacının meme kanserine yaptığı %50 inhibisyon dozunun etkisini kolorektal kanser üzerinde gösterememiştir.



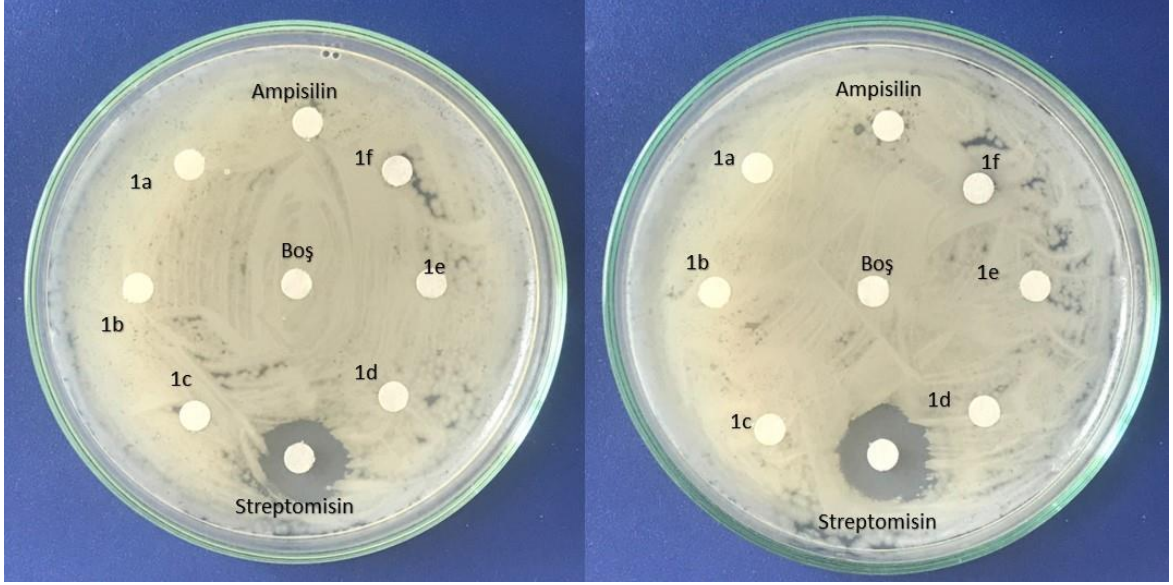
Şekil 4.2. 2. Fenilboronik asit fonksiyonelli N-heterosiklik karbon öncüllerinin MCF-7, A549 ve HCT116 hücreleri üzerindeki etkisi.

4.3. Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi

Bacillus subtilis ve *Escherichia coli* bakterilerinin ampisilin antibiyotiği ile kıyasla etkinliği zon çapı ölçümleri ile belirlenmiştir. Benzimidazolyum tuzlarının bakteriler üzerinde etkisinin olmadığı ve ampisilin antibiyotiğinin gram negatif bakteriler üzerinde öldürücü etkisinin, gram pozitif bakteriler üzerindeki öldürücü etkisinden fazla olduğu Şekil 4.3.1.1 ve Şekil 4.3.2.1 görsellerinde gözlemlenmiştir.

4.3.1. *Bacillus subtilis* bakterisi üzerinde tuzların etkisi

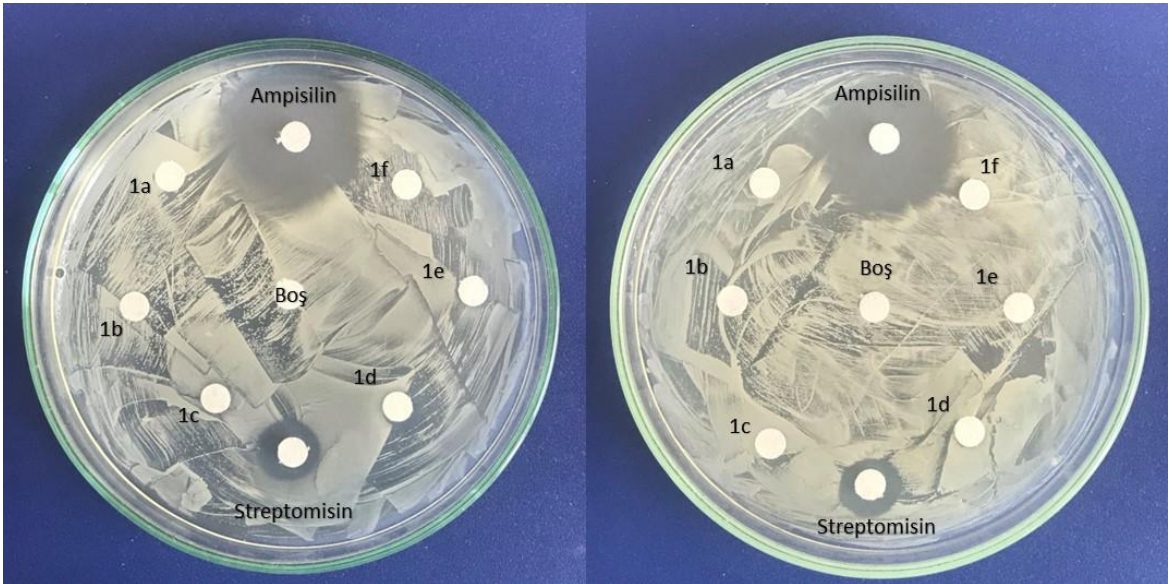
Yapılan zon çapı ölçüm deneyi sonucunda gram pozitif olan *B. subtilis* bakterisine muamele edilen ve 24 saat salınım yapılması beklenen disklerin ölçümleri sonucunda sadece streptomisin antibiyotiğinde etkinlik olduğu görülmüştür (Şekil 4.3.1. 1.). Streptomisin zon çapı mm cinsinden 14.55 ± 1.23 olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.3.1. 2. Zon çapı ölçümü ile *B. subtilis* bakterisinin zon çapı ölçüm sonuçları

4.3.2. *Escherichia coli* Bakterisi Üzerinde Benzimidazolyum Tuzlarının Etkisi

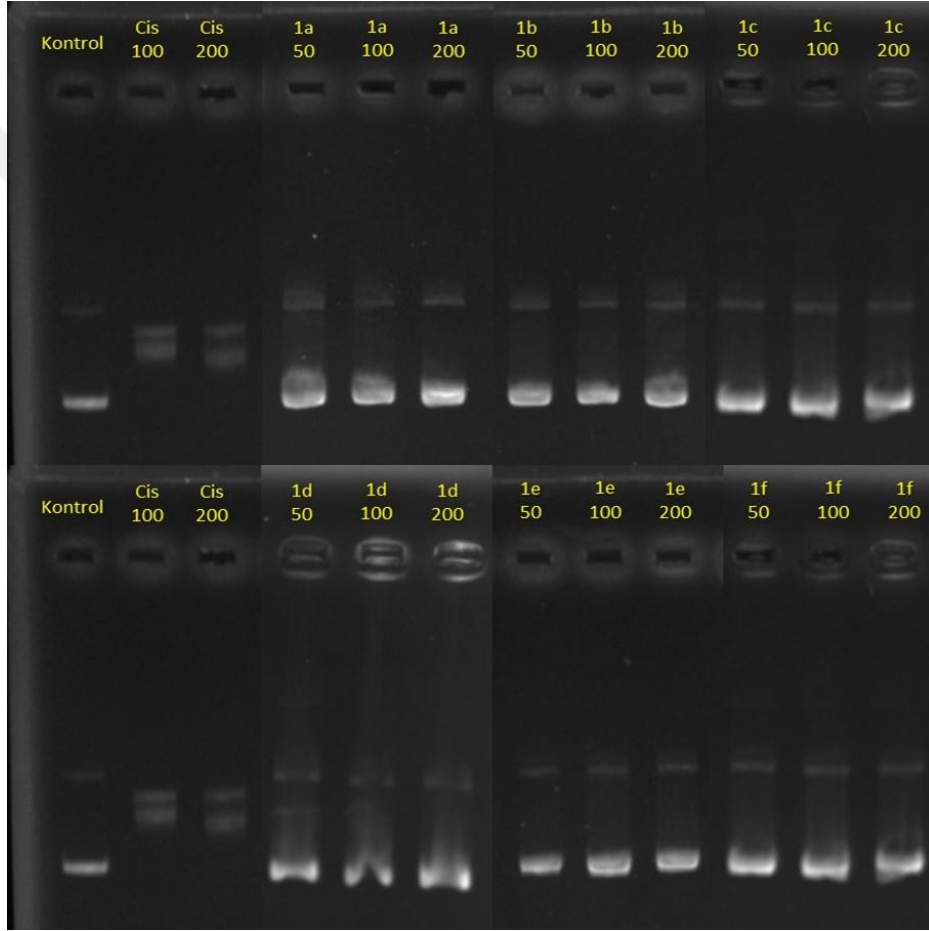
Yapılan zon çapı ölçüm deneyi sonucunda gram pozitif olan *B. subtilis* bakterisine muamele edilen ve 24 saat salınım yapılması beklenen disklerin ölçümleri sonucunda sadece ampicilin ve streptomisin antibiyotiginde etkinlik olduğu görülmüştür (Şekil 4.3.2. 3.). Ampicilin zon çapı mm cinsinden 24 ± 2.23 olarak ölçülmüştür. Streptomisin zon çapı mm cinsinden 10.33 ± 0.5 olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.3.2. 1. Zon çapı ölçümü ile *E. coli* bakterisinin zon çapı ölçüm sonuçları

4.4. Feniloronik Asit Fonksiyoneli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Genotoksosite Özelliklerinin Belirlenmesi

Yapılan DNA bağlanma çalışmasında ilaç kontrolü olarak cisplatin adı verilen kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilacı 100 ve 200 µg/mL olarak verilmiştir. Pozitif kontrole kıyasla benzimidazolyum tuzlarının konsantrasyonu arttıkça antikanser çalışmalarında öldürücü doz olduğu bilinen miktarların üzerindeki konsantrasyonlarda (her tuzdan sırasıyla 50, 100, 200 µg/mL konsantrasyon hazırlanmıştır) DNA ile bir etkileşiminin olduğu görülmemiştir (Şekil 4.4. 1.).



Şekil 4.4. 2. pBR322 plazmitinin fenilboronik asit fonksiyoneli n-heterosiklik karbon öncülleri ile etkileşiminin agaroz jel ile görüntüleri

4.5. Fenilboronik Asit Fonksiyonelli NHC Öncüllerinin *in vitro* Sistemde Enzim İnhibisyon Özelliklerinin Belirlenmesi

Enzim aktiviteleri çalışmalarında ksantin oksidaz ve asetilkolinesteraz enzimleri kullanılmıştır. Enzimlerin ürün elde etme miktarları göz önünde bulundurularak IC₅₀ değeri µg/mL konsantrasyon cinsinden hesaplanmıştır.

4.5.1. Ksantin Oksidaz Enzimi Üzerinde Etkisi

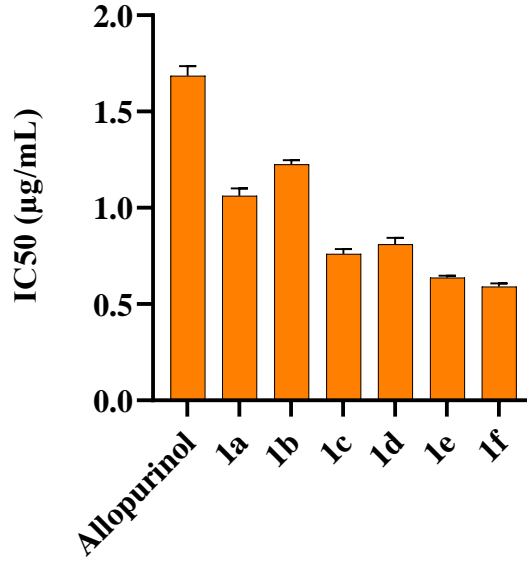
XO aktivitesinin inhibisyon yüzdesi (IC₅₀) aşağıdaki Şekilde hesaplanmıştır:

% inhibisyon = (A-B) / A × 100 (A = test bileşiği olmadan 294 nm'de absorbans) (B = test bileşiği ile 294 nm'de absorbans.)

Yapılan ksantin oksidaz enzim inhibisyon deneyi sonucunda bütün tuzlar allopurinol ilacından daha fazla etkinlik göstermiş olup en yüksek etkinliği **1f** tuzu göstermiştir (Çizelge 4.5.1. 1. ve Şekil 4.5.1. 1.). Benzimidazolyum tuzları arasında en düşük etkiyi **1b** göstermiş olup allopurinol ilacından IC₅₀ değeri düşüktür.

Çizelge 4.5.1. 2. Fenilboronik asit fonksiyonelli N-heterosiklik karben öncüllerinin Ksantin Oksidaz enzimi üzerinde inhibisyon değerleri

Örnekler	IC ₅₀ (µg/mL)
Allopurinol	1.685±0.051
1a	1.062±0.038
1b	1.226±0.021
1c	0.761±0.024
1d	0.811±0.033
1e	0.637±0.011
1f	0.591±0.016



Şekil 4.5.1. 2. Fenilboronik asit fonksiyonelli N-heterosiklik karben öncüllerinin Ksantin Oksidaz enzimi üzerinde inhibisyon grafiği

4.5.2. Asetilkolinesteraz Enzimi Üzerinde Etkisi

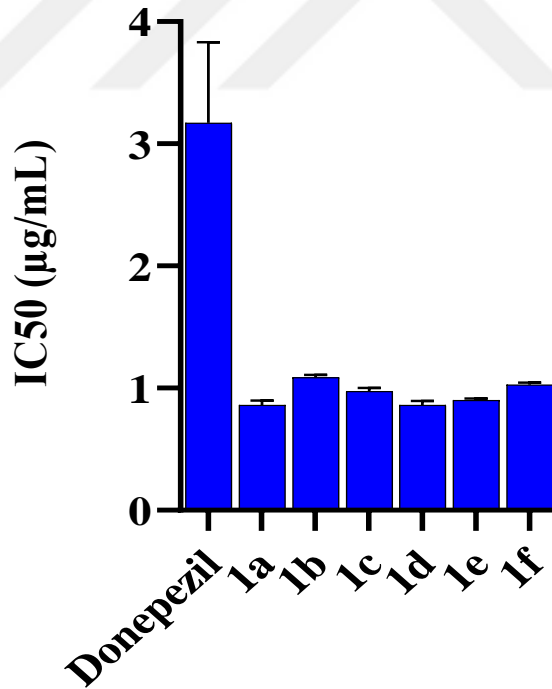
AChE yüzde inhibisyonu aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

% inhibisyon = $(A-B) / A \times 100$ A = test bileşiği olmadan 410 nm'de absorban, B = test bileşiği ile 410 nm'de absorban.

Yapılan Asetilkolinesteraz enzim inhibisyon deneyi sonucunda bütün tuzlar donepezil ilacından çok fazla etkinlik göstermiş olup en yüksek etkinliği **1a** tuzu göstermiştir (Çizelge 4.5.2. 1. ve Şekil 4.5.2. 1.). Benzimidazolyum tuzlar arasında en düşük etkiyi **1b** göstermiş olup donepezil ilacından IC₅₀ değeri düşüktür.

Çizelge 4.5.2. 2. Fenilboronik asit fonksiyonelli N-heterosiklik karben öncüllerinin Asetilkolinesteraz enzimi üzerinde inhibisyon değerleri

Örnekler	IC ₅₀ (µg/mL)
Donepezil	3.172±0.661
1a	0.861±0.045
1b	1.088±0.049
1c	0.976±0.058
1d	0.862±0.033
1e	0.903±0.011
1f	1.029±0.016



Şekil 4.5.2. 2. Fenilboronik asit fonksiyonelli n-heterosiklik karben öncüllerinin Asetilkolinesteraz enzimi üzerinde inhibisyon grafiği

5.TARTIŞMA

1969'da cisplatinin antitümör aktivitesinin keşfi, potansiyel antikanser ilaçları olarak yeni metal içeren komplekslerin araştırılmasına yol açtı. Bu yeni kompleksler arasında, metal N-heterosiklik karben (NHC) kompleksleri, verimli ilaç tasarımı ve hızlı optimizasyon için ön koşullara mükemmel şekilde uydukları için son zamanlarda büyük ilgi görmüştür. Sentezlenen benzimidazolyum tuzlarından palladyum kompleksleri sentezlenmeye çalışılmış ancak sentez sırasında kullanılan bazik tuzlardan dolayı benzen halkası üzerinde yer alan boronik asit grubu bozunmuştur. Benzimidazolyum tuzlarının antikanser etkileri cisplatin ilacıyla kıyaslandığında yaklaşık olarak %50 daha fazla verim göstermiştir. Boronik asit fonksiyonel grubu içeren imidazol çeşidi olan benzimidazolyum tuzlarının sentezi, karakterizasyonu, antikanser, genotoksikite, antibakteriyel ve enzim inhibisyonu özellikleri araştırılmış ve arasındaki ilişki açıklanmıştır.

Çalışma kapsamında meta-fenilboronik asit süstitüentli benzimidazolyum tuzları (**1a-f**) sentezlenmiştir. Hücrelerin metabolik aktivitelerini ölçmek için MTT kullanılmıştır. Sentezlenen tuzların MCF-7 hücre hattı üzerinde **1a-f** tuzlarının ve cisplatin için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 37.40±1.70, 54.17±2.77, 29.57±3.04, 32.27±4.24, 29.90±2.89, 38.97±2.44 ve 82.02±6.19 olarak bulunmuştur. Buna göre **1c** bileşiğinin cisplatinden etkinlik olarak 3 katı kadar etkili olduğu söylenebilir. A549 Hücre Hattı üzerinde ise **1a-f** tuzlarının ve cisplatin için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 38.83±3.17, 51.17±5.84, 17.14±3.72, 31.86±3.53, 29.24±2.86, 24.18±3.99 ve 91.31±3.65 olarak tespit edilmiştir. Yine **1c** bileşiğinin cisplatine kıyasla etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmadan A549 hücreleri üzerinde cisplatinin MCF-7 hücrelerine kıyasla daha az etkin olduğu söylenebilir. HCT116 hücre hattı için **1a-f** tuzlarının ve cisplatin için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 29.20±2.33, 52.78±2.22, 34.29±1.97, 30.42±4.52, 15.31±3.81, 36.04±1.38 ve 106.57±6.77 olarak bulunmuştur. İlk iki hücreden farklı olarak HCT116 hücresinde **1e** tuzu en yüksek aktivite göstermiş olup, cisplatinin diğer iki hücredekine kıyasla daha düşük aktivite gösterdiği görülmüştür. Genotoksik çalışmalarda pBR322 plazmiti üzerinde artan konsantrasyona rağmen bir etkisi görülmemiştir. pBR322 plazmiti cisplatin ile maruz bırakıldığında süper coil yapısından coil yapısına veya halkasal yapıya geçmektedir. Bu da cisplatinin genetik materyale etki ettiğini göstermektedir. Fakat DNA binding çalışmalarından malzemelerin DNA üzerinde herhangi bir bağlanmaya sebep olmadığı görülmüş olup genotoksik bir ölüm olmadığı söylenebilir. *B. subtilis* ve *E. coli* bakterilerinde standart antibiyotiklerle karşılaştırılabilir düzey öldürücü etki göstermemiştir. Buradan çıkarılacak sonuç bakteri metabolizmasının ve hücre yapısının ökaryot hücrelerden

farklı olmasıdır. Bu farklılık bakterilere geliştirilen bileşiklere karşı bağışıklık göstermektedir. Enzim inhibisyonu testinde **1a-f** tuzlarının ve allopurinol için IC₅₀ µg/mL değerleri sırasıyla 1.062±0.038, 1.226±0.021, 0.761±0.024, 0.811±0.033, 0.637±0.011, 0.591±0.016 ve 1.685±0.051 olarak bulunmuştur. Buna göre 1f malzemesinin etkinliği diğer malzemelere ve allopurinole göre daha fazla etkinlik göstermiştir. Asetilkolinesteraz enzimine ise donepezilden daha fazla inhibisyon özelliği göstermiş ve bu değerler **1a-f** tuzlarının ve donepezil ilacı için IC₅₀ µg/mL değeri sırasıyla 0.861±0.045, 1.088±0.049, 0.976±0.058, 0.862±0.033, 0.903±0.011, 1.029±0.089 ve 3.172±0.661 olarak bulunmuştur. Bunun sonucunda 1a malzemesinin etkinliği donepezile göre ve diğer bileşiklere göre fazladır. Sonuç olarak boronik asit fonksiyonelli NHC öncüllerinin biyolojik olarak aktif bileşikler olduğu ve özellikle enzim inhibisyonları yolu ile hücreler üzerinde biyolojik olarak aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir.

Güçlü σ -verici ve zayıf π -geri alıcı özellikleriyle NHC'ler fosfinlerle kıyaslandığında çok yönlü ligandlardır. Ayrıca fosfinlere göre sadece kolay sentezlenmeleri ve fonksiyonel olmaları değil, aynı zamanda metallerle daha kuvvetli bağ yapmaları ve böylece fosfin-metal komplekslerinden daha kararlı metal-NHC kompleksleri oluşturmalarıdır. NHC ligandları öncelikle güçlü σ -verici ve daha az bir derecede π -geri alıcı yoluyla metal merkezleri ile etkileşime girer. Metal-ligand bağının kuvvetli olması ve elektron yoğunluğunun fazla olması sayesinde, NHC'ler bazı katalitik aktiviteler için çok önemli bir konuma sahiptir (Fulscher ve ark., 1995). Ayrıca, son yıllarda tıbbi uygulamaları, başta Ag(I), Ru(II), Pt(II) olmak üzere M-NHC komplekslerinin antimikrobiyal ve antikanser etkileri üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Bu anlamda son yıllarda organometalik komplekslerin hem *in-vivo* hem de *in-vitro* çalışmalarında umut verici aktiviteler gözlenmiştir (Akkurt ve ark., 2012; Oehninger ve ark., 2013). Yeni sentezlenen farklı işlevsel grupların tek başına ve kombine olarak kullanımı sonucu oluşacak etkilerin mekanizmaları ile ortaya konması ilaç etken madde geliştirilmesi açısından önemli olacaktır. Eşsiz elektronik ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, ilaç endüstrisi ve akademi bor içeren bileşiklere ilgi son yıllarda artmakta ve bu alanda yeni terapötikler ajanlar geliştirmeye çalışılmaktadır. Bu bileşikler boş bir p-orbital içermesi nedeniyle güçlü Lewis asitleridir. Bor merkezi fizyolojik koşullar altında, kolayca nötral trigonal düzlemsel sp²'den tetrahedral sp³ hibridizasyonuna dönüştürülebilir. Bu durum bor içeren bileşiklerin kimyasal ve biyolojik özelliklerinin ortaya çıkmasında çok önemli olup özellikle biyolojik moleküllerle çok kolay bir şekilde etkileşmesine izin vermektedir (Ban ve ark. 2012). Bu nedenle farklı fonksiyonel taşıyıcı

sistemlerle oluşturulan boronik asit fonksiyonel sistemlerin biyolojik özelliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Literatürde sentezlenmiş başka benzimidazol ve karben kompleksleri ile yapılan hücre kültür çalışmalarında yüksek aktivite görülmüştür (Aktaş, 2019). Bouché ve diğ., platin NHC komplekslerinin HCT116, PC3 hücresinde denemişlerdir. Bu komplekslerin reaktif oksijen türlerini önlemesi planlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda HCT116 hücre hattı için cisplatinden %50 daha fazla aktivite gösteren bileşik sentezlendiği görülmüştür (Bouché, ve diğ., 2016). Bertrand ve diğ., bakır NHC kompleksleri sentezlemişler ve cisplatine direnci yüksek olan A549 hücre hattı üzerinde çalışmışlardır. Hücre kültür çalışmaları sonucunda sentezlenen komplekslerin cisplatinden daha fazla aktivite gösterdiği görülmüştür (Bertrand, ve diğ., 2017). Streciwik ve diğ., çalışmalarında da bakır NHC kompleksleri sentezlemiştir. Sentezledikleri komplekslerin MCF-7 hücreleri üzerinde biyolojik aktiviteleri cisplatine kıyasla çok yüksek çıkmıştır. Bundan ötürü hayvan çalışmalarında kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır (Streciwik, ve diğ., 2014). Pellei ve diğ., tarafından sentezlenen bakır NHC kompleksler cis platine kıyasla en yüksek 7 kat daha fazla aktivite göstermiştir (Pellei, ve diğ., 2015). Chekkat ve arkadaşları sentezledikleri platin NHC komplekslerinin hem hücre kültürü hem de hayvan çalışmalarını yapmışlardır. Elde ettikleri veriler ışığında komplekslerinin anti tümör özelliğinin olduğu ortaya çıkmıştır (Chekkat, ve diğ., 2016).

Yapılan bu hücre kültür çalışmalarında bu sentezlenmiş olan komplekslerin ortak noktası DNA mutasyonuna sebep olması veya ROS üretmesinden ötürüdür. Bu çalışmaların DNA mutasyonlarına sebep olmasının beklenmesi, içerdiği metalden gelmektedir. Buna en iyi örnek hücre kültür çalışmalarında da kontrol olarak kullandığımız cisplatindir. Cisplatin DNA'nın pürin bazlarından bağlanarak genetik bilginin okunmasını engeller. Ayrıca bağlanarak şekil ve yapısını bozmaktadır. Bizim çalışmalarımızda metal kompleks olmadığından, bileşiklerimizin DNA hasarına sebep olmadan enzimleri inhibe ettiği ve bu şekilde hücreyi apoptoza götürdüğü düşünülmektedir. Bu kapsamda apoptoz yollarına yönelik çalışmaların planlanması etki mekanizmalarının tam olarak ortaya çıkarılması açısından önemli olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKÇALAR

- Adams, J.** (2004). The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs. *Cancer cell*, 5(5), 417-421.
- Akama, T., Baker, S. J., Zhang, Y. K., Hernandez, V., Zhou, H., Sanders, V., ... & Plattner, J. J.** (2009). Discovery and structure–activity study of a novel benzoxaborole anti-inflammatory agent (AN2728) for the potential topical treatment of psoriasis and atopic dermatitis. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(8), 2129-2132.
- Akkurt, M., Akkoc, S., Gök, Y., Dağdemir, Y., & Tahir, M. N.** (2012). Chlorido [1-phenyl-3-(2, 3, 5, 6-tetramethylbenzyl) benzimidazol-2-ylidene] silver (I). *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 68(5), m590-m591.
- Aktaş, A.** (2019) Platin ve Bakır Temelli N-Heterosiklik Karben (NHC) Komplekslerinin Antikanser Özellikleri ve Etki Mekanizmaları. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 713-724.
- Aktaş A., Akkoç S., Gök Y.** (2013). Palladium catalyzed Mizoroki–Heck and Suzuki–Miyaura reactions using naphthalenomethyl-substituted imidazolidin-2-ylidene ligands in aqueous media. *J. Coord. Chem.* 66, 2901–2909.
- Arkwright, R., Pham, T. M., Zonder, J. A., & Dou, Q. P.** (2017). The preclinical discovery and development of bortezomib for the treatment of mantle cell lymphoma. *Expert opinion on drug discovery*, 12(2), 225-235.
- Aroso, R. T., Guedes, R. C., & Pereira, M. M.** (2021). Synthesis of computationally designed 2, 5 (6)-benzimidazole derivatives via Pd-Catalyzed reactions for potential E. coli DNA gyrase B inhibition. *Molecules*, 26(5), 1326.
- Balaban, A. T., Oniciu, D. C., & Katritzky, A. R.** (2004). Aromaticity as a cornerstone of heterocyclic chemistry. *Chemical reviews*, 104(5), 2777-2812.
- Ban, Q., Zhang, J., Liang, T., Redshaw, C., & Sun, W. H.** (2012). 2, 6-Dibenzhydryl-N-(2-aryliminoacenaphthylenylidene)-4-chlorobenzenamino-palladium dichlorides: synthesis, characterization, and use as catalysts in the Heck-reaction. *Journal of Organometallic Chemistry*, 713, 151-156.

- Beck, D. J., & Brubaker, R. R.** (1973). Effect Of Cis-Platinum (II) Diamminodichloride on Wild Type and Deoxyribonucleic Acid Repair-Deficient Mutants of Escherichia Coli. *Journal Of Bacteriology*, 116(3), 1247-1252.
- Beesley, T.,** Gascoyne, N., Knott-Hunziker, D. V., Petursson, S., Waley, S. G., Jaurin, B., & Grundström, T. (1983). The inhibition of class C β -lactamases by boronic acids. *Biochemical Journal*, 209(1), 229-233.
- Bellina, F.,** Carpita, A., Rossi, R. (2004). Palladium catalysed Suzuki crosscoupling reaction: An overview of recent advances. *Synthesis*, 15, 2419-2440.
- Bertrand B.,** Romanov A.S., Brooks M., Davis J., Schmidt C., Ott I., O'Connell M. Bochmann M. 2017. Synthesis, structure, and cytotoxicity of cyclic (alkyl)(amino) carbene and acyclic carbene complexes of group 11 metals. *Dalton Transactions*, 46: 15875-15887.
- Blakeney, J. S.,** Reid, R. C., Le, G. T., & Fairlie, D. P. (2007). Nonpeptidic ligands for peptide-activated G protein-coupled receptors. *Chemical reviews*, 107(7), 2960-3041.
- Bouché M.,** Dahm G., Wantz M., Fournel S., Acharda T., Bellemin-Lapponnaz S. 2016. Platinum(IV) N-heterocyclic carbene complexes: their synthesis, characterisation and cytotoxic activity. *Dalton Transactions*, 45 (28): 11362-11368.
- Can, Ö. D.,** Osmaniye, D., Özkay, Ü. D., Sağlık, B. N., Levent, S., Ilgın, S., ... & Kaplancıklı, Z. A. (2017). MAO enzymes inhibitory activity of new benzimidazole derivatives including hydrazone and propargyl side chains. *European journal of medicinal chemistry*, 131, 92-106.
- Chekkat N.,** Dahm G., Chardon E., Wantz M., Sitz J., Decossas M., Lambert O., Frisch B., Rubbiani R., Gasser G., Guichard G., Fournel S., Bellemin Lapponnaz S. 2016. N-Heterocyclic Carbene–Polyethylenimine Platinum Complexes with Potent in Vitro and in Vivo Antitumor Efficacy. *Bioconjugate Chemistry*, 27 (8): 1942-194.
- Chen, D.,** Frezza, M., Schmitt, S., Kanwar, J., & P Dou, Q. (2011). Bortezomib as the first proteasome inhibitor anticancer drug: status and future perspectives. *Current cancer drug targets*, 11(3), 239-253.

- Chen, T. S.,** Chang, C. J., & Floss, H. G. (1981). Biosynthesis of boromycin. *The Journal of Organic Chemistry*, 46(13), 2661-2665.
- Chong, P. Y.,** Shotwell, J. B., Miller, J., Price, D. J., Maynard, A., Voitenleitner, C., ... & Peat, A. J. (2019). Design of n-benzoxaborole benzofuran gsk8175—optimization of human pharmacokinetics inspired by metabolites of a failed clinical hcv inhibitor. *Journal of medicinal chemistry*, 62(7), 3254-3267.
- Cook, J.A.** & Mitchell, J.B. (1989) Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem.* 179 (1), 1-7.
- Cui, B.,** Zheng, B. L., He, K., & Zheng, Q. Y. (2003). Imidazole alkaloids from *lepidium m eyenii*. *Journal of natural products*, 66(8), 1101-1103.
- Dembitsky, V. M.,** Al Quntar, A. A. A., & Srebnik, M. (2011). Natural and synthetic small boron-containing molecules as potential inhibitors of bacterial and fungal quorum sensing. *Chemical Reviews*, 111(1), 209-237.
- Denizot, F.** & Lang, R. (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods.* 89 (2), 271-7.
- Elmore, S.** (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
- Fazeny-Dörner, B.,** Veitl, M., Wenzel, C., Piribauer, M., Rössler, K., Dieckmann, K., ... & Marosi, C. (2003). Second-line chemotherapy with dacarbazine and fotemustine in nitrosourea-pretreated patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Anti-cancer drugs*, 14(6), 437-442.
- Fraval, H. N. A.,** Rawlings, C. J., & Roberts, J. J. (1978). Increased Sensitivity of Uv-Repair-Deficient Human Cells to DNA Bound Platinum Products Which Unlike Thymine Dimers Are Not Recognized by An Endonuclease Extracted from *Micrococcus Luteus*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 51(1), 121-132.
- Freshney RI.** (2015). Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications. 7th ed. USA: *John Wiley & Sons*.
- Gautier, A.,** Cisnetti, F. (2012). Advances In Metal-Carbene Complexes as Potent Anti-Cancer Agents. *Metallomics.* 4, 23–32.
- Groll, M.,** Berkers, C. R., Ploegh, H. L., & Ovaa, H. (2006). Crystal structure of the boronic acid-based proteasome inhibitor bortezomib in complex with the yeast 20S proteasome. *Structure*, 14(3), 451-456.

- Gürses, C., Uyan, M., Kuruçay, A., & Paşahan, A. (2021).** The Preparation of Various Tear-Containing Creams and Investigation of Their Antibacterial Properties. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 9(3), 873-885.
- Haluska, P., Dy, G. K., & Adjei, A. A. (2002).** Farnesyl transferase inhibitors as anticancer agents. *European Journal of Cancer*, 38(13), 1685-1700.
- Hecker, S. J., Reddy, K. R., Totrov, M., Hirst, G. C., Lomovskaya, O., Griffith, D. C., ... & Dudley, M. N. (2015).** Discovery of a cyclic boronic acid β -lactamase inhibitor (RPX7009) with utility vs class A serine carbapenemases.
- Holmgren, A., Jun, L. (2010).** Thioredoxin and Thioredoxin Reductase: Current Research with Special Reference to Human Disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 396, 120–124.
- Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J. U. S. T. Y. N. A., Kawczuga, D. O. R. O. T. A., Kochman, J., & Janda, K. A. T. A. R. Z. Y. N. A. (2020).** Reactive oxygen species-sources, functions, oxidative damage. *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 48(284), 124-127.
- Jinna, S., & Finch, J. (2015).** Spotlight on tavaborole for the treatment of onychomycosis. *Drug design, development and therapy*, 9, 6185.7
- Kane, R. C., Farrell, A. T., Sridhara, R., & Pazdur, R. (2006).** United States Food and Drug Administration approval summary: bortezomib for the treatment of progressive multiple myeloma after one prior therapy. *Clinical Cancer Research*, 12(10), 2955-2960.
- Knochel, P., Icalaza, M., Hupe, E. (2004).** In metal-catalyzed crosscoupling reactions. *Wiley-VCH, Weinheim*. 2, 619-670
- Kohno, J., Kawahata, T., Otake, T., Morimoto, M., Mori, H., Ueba, N., ... & Kawashima, K. (1996).** Boromycin, an anti-HIV antibiotic. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 60(6), 1036-1037.
- Korkmaz, S., & Bilal, T. (2014).** Maca (*Lepidium Meyenii*) bitkisinin yem katkı maddesi olarak kullanım alanlarına yaklaşım. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 54(1), 39-45.

- Kotteas, E.,** Alamara, C., Kiagia, M., Pantazopoulos, K., Boufas, A., Provata, A., ... & Syrigos, K. N. (2008). Safety and efficacy of zoledronic acid rapid infusion in lung cancer patients with bone metastases: a single institution experience. *Anticancer research*, 28(1B), 529-533.
- Krezel, I.** (1998). New derivatives of imidazole as potential anticancer agents. *Farmaco (Societa Chimica Italiana: 1989)*, 53(5), 342-345.
- Kumar, S.,** Moreau, P., Hari, P., Mateos, M. V., Ludwig, H., Shustik, C., ... & Richardson, P. G. (2017). Management of adverse events associated with ixazomib plus lenalidomide/dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma. *British journal of haematology*, 178(4), 571-582.
- Kühl, O.** (2010). Functionalised N-Heterocycliccarbenecomplexes. John Wiley&Sons, Ltd. 7-8.
- Lee, Y.,** Kim, J., & Trinh, S. (2019). Meropenem–vaborbactam (Vabomere™): another option for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Pharmacy and Therapeutics*, 44(3), 110.
- Li, X.,** Hernandez, V., Rock, F. L., Choi, W., Mak, Y. S., Mohan, M., ... & Alley, M. R. K. (2017). Discovery of a potent and specific *M. tuberculosis* Leucyl-tRNA synthetase inhibitor:(S)-3-(Aminomethyl)-4-chloro-7-(2-hydroxyethoxy) benzo [c][1, 2] oxaborol-1 (3 H)-ol (GSK656). *Journal of medicinal chemistry*, 60(19), 8011-8026.
- Li, Z.,** Gelbaum, C., Heaner, W. L., Fisk, J., Jaganathan, A., Holden, B., Pollet, P., Liotta, C. L. (2016). Palladium-Catalyzed Suzuki Reactions in Water with No Added Ligand: Effects of Reaction Scale, Temperature, pH of Aqueous Phase, and Substrate Structure. *Org. Process Res. Dev.* 20, 1489-1499.
- Livermore, D. M.,** & Mushtaq, S. (2013). Activity of biapenem (RPX2003) combined with the boronate β -lactamase inhibitor RPX7009 against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 68(8), 1825-1831.
- Liu, Y.,** Peterson, D.A., Kimura, H. & Schubert, D. (1997). Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *J. Neurochem.* 69 (2), 581-93.

- Ludwig, H.,** Poenisch, W., Knop, S., Egle, A., Schreder, M., Lechner, D., ... & Zojer, N. (2019). Ixazomib–Thalidomide–Dexamethasone for induction therapy followed by Ixazomib maintenance treatment in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *British journal of cancer*, 121(9), 751-757.
- Markham, A.** (2014). Tavaborole: first global approval. *Drugs*, 74(13), 1555-1558.
- Markinson, B.,** Ghannoum, M., Winter, T., Rycerz, A., Rock, F., & Gupta, A. K. (2018). Examining the Benefits of the Boron-Based Mechanism of Action and Physicochemical Properties of Tavaborole in the Treatment of Onychomycosis. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 108(1), 12-19.
- Marzano, C.,** Pellei, M., Tisato, F., Santini, C. (2009). Copper Complexes as Anticancer Agents Anti-Cancer Agents. *Med. Chem.* 9, 185-211.
- Matzingerand, S.,** Fulscher, M. P. (1995). Methyl Substitution In Carbenes. A Theoretica Prediction of The Singlet-Triplet Energy Separation of Dimethylcarbene. *J. Phys. Chem.* **99**, 10747-10751.
- Monteferrante, C. G.,** Jirgensons, A., Varik, V., Hauryliuk, V., Goessens, W. H. F., & Hays, J. P. (2016). Evaluation of the characteristics of leucyl-tRNA synthetase (LeuRS) inhibitor AN3365 in combination with different antibiotic classes. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35(11), 1857-1864.
- Moreira, W.,** Aziz, D. B., & Dick, T. (2016). Boromycin kills mycobacterial persisters without detectable resistance. *Frontiers in microbiology*, 7, 199.
- Moseman, R.F.,**(1994), Chemical disposition of Boron in animals and humans, *Environmental Health Perspect*, 102,113-117.
- Mosmann, T.** (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 65 (1-2), 55-63.
- Muz, B.,** Ghazarian, R. N., Ou, M., Luderer, M. J., Kusdono, H. D., & Azab, A. K. (2016). Spotlight on ixazomib: potential in the treatment of multiple myeloma. *Drug design, development and therapy*, 10, 217.

- Nakamura, H.,** IITAKA, Y., KITAHARA, T., OKAZAKI, T., & OKAMI, Y. (1977). Structure of aplasmomycin. *The Journal of antibiotics*, 30(9), 714-719.
- Neochoritis, C.,** Tsoleridis, C. A., & Stephanidou-Stephanatou, J. (2008). 1-Arylaminoimidazole-2-thiones as intermediates in the synthesis of imidazo [2, 1-b][1, 3, 4] thiadiazines. *Tetrahedron*, 64(16), 3527-3533.
- Nyulaszi, L.,** Szieberth, D., Rey, R., Veszpremi, T. (1998). H₂PCH: A Phosphinocarbene or A Phosphaacetylene? A Revisited Problem. *J. Mol. Struct. (T Heochem)*. **453**, 91-95.
- Oehninger, L.,** Rubbiani, R., & Ott, I. (2013). N-Heterocyclic carbene metal complexes in medicinal chemistry. *Dalton Transactions*, 42(10), 3269-3284.
- Özdemir, İ.** Demir, S. Gök, Y., Çetinkaya, E., Çetinkaya, B. (2004). Synthesis of novel palladium–carbene complexes as efficient catalysts for amination of aryl chlorides in ionic liquid. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 222, 97-102
- Pellei M., Gandin V.,** Marinelli M., Orsetti A., Del Bello F., Santini C., Marzano C. 2015. Novel triazolium based 11th group NHCs: synthesis, characterization and cellular response mechanisms. *Dalton Transactions*, 44: 21041-21052
- Pellissier, H.,** (2008). Recent developments in asymmetric cyclopropanation. *Tetrahedron*. 64, 7041–7095
- Perez-Ruixo, J. J.,** Piotrovskij, V., Zhang, S., Hayes, S., Porre, P. D., & Zannikos, P. (2006). Population pharmacokinetics of tipifarnib in healthy subjects and adult cancer patients. *British journal of clinical pharmacology*, 62(1), 81-96.
- Pistritto, G.,** Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A., & D'Orazi, G. (2016). Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging (Albany NY)*, 8(4), 603.
- Pizarro, A. M.,** Sadler, P. J. (2009). Unusual DNA Binding Modes for Metal Anticancer Complexes. *Biochimie*. 91, 1198-1211.
- Plescica, J.,** & Moitessier, N. (2020). Design and discovery of boronic acid drugs. *European journal of medicinal chemistry*, 195, 112270.

- Ragan, J. A.,** Raggon, J. W., Hill, P. D., Jones, B. P., McDermoot, R. E., Munchhof, M. J., Marx, M. A., Casavant, J. M., Copper, B. A., Doty, J. L., Lu, Y. (2003). Cross-Coupling Methods for the Large-Scale Preparation of an Imidazole–Thienopyridine: Synthesis of [2-(3-Methyl-3H-imidazol-4-yl)-thieno[3,2- b]pyridin 7-yl]-(2-methyl-1H-indol-5-yl)-amine. *Org. Process Res. Dev.* 7, 676– 683.
- Richardson, P. G.,** Mitsiades, C., Schlossman, R., Ghobrial, I., Hideshima, T., Munshi, N., & Anderson, K. C. (2008). Bortezomib in the front-line treatment of multiple myeloma. *Expert review of anticancer therapy*, 8(7), 1053-1072.
- Rush, G. F.,** Smith, P. F., Alberts, D. W., Mirabelli, C. K., Snyder, R. M., Crooke, S. T., Sowinski, J., Jones, H. B., Bugelski, P. J. (1987). The Mechanism of Acute Cytotoxicity of Triethylphosphine Gold(I) Complexes. I: Characterization of Triethylphosphine Gold Chloride-Induced Biochemical and Morphological Changes In Isolated Hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 90, 377–390.
- Rush, G. F.,** Smith, P. F., Hoke, G. D., Alberts, D. W., Snyder, R. M., Mirabelli, C. K., (1987). The Mechanism of Acute Cytotoxicity of Triethylphosphine Gold(I) Complexes. Ii. Triethylphosphine Gold Chloride-Induced Alterations In Mitochondrial Function. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 90, 391–400.
- Watson, N.** (1988). A New Revision of The Sequence of Plasmid Pbr322. *Gene*, 70(2), 399-403.
- Sabounchei, S. J.,** Hosseinzadeh, M., Panahimehr, M., Nematollahi, D., Khavasi, H. R., Khazalpour, S. (2015) A palladium–phosphine catalytic system as an active and recycable precatalyst for Suzuki coupling in water. *Transition Met. Chem.* 40, 657–663.
- Shimizu, Y.,** Ogasawara, Y., Matsumoto, A., & Dairi, T. (2018). Aplasmomycin and boromycin are specific inhibitors of the futasine pathway. *The Journal of Antibiotics*, 71(11), 968-970.
- Shirley, M.** (2016). Ixazomib: first global approval. *Drugs*, 76(3), 405-411.
- Stockert, J.C.,** Blázquez-Castro, A., Cañete, M., Horobin, R.W. & Villanueva, Á. (2012). MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochem.* 114 (8), 785-96.

- Streciwilk W.**, Hackenberg F., Muller-Bunz H., Tacke M. 2014. Synthesis and cytotoxicity studies of p-benzyl substituted NHC–copper(I) bromide derivatives. *Polyhedron*, 80: 3–9.
- Sweeney a. P.**, Wyllie, S. G., Shalliker, R. a., & Markham, J. L. (2001). Xanthine oxidase inhibitory activity of selected australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 75, 273–277.
- Tenero, D.**, Derimanov, G., Carlton, A., Tonkyn, J., Davies, M., Cozens, S., ... & Barros-Aguirre, D. (2019). First-time-in-human study and prediction of early bactericidal activity for GSK3036656, a potent leucyl-tRNA synthetase inhibitor for tuberculosis treatment. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(8), e00240-19.
- Trujillo, J. M.**, Yang, L. Y., Gercovich, G., Su, Y. Z., & Lee, J. (1989). Metronidazole enhances the cytotoxic synergism produced by the combination of 1-beta-arabinofuranosylcytosine and cis-diamminedichloroplatinum. *Anticancer research*, 9(6), 1751-1756.
- Vellonen, K.-S.**, Honkakoski, P. & Urtti, A. (2004). Substrates and inhibitors of efflux proteins interfere with the MTT assay in cells and may lead to underestimation of drug toxicity. *Eur J Pharm Sci.* 23 (2), 181-8.
- Vinken, M.** & Blaauboer, B.J. (2017). In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicol In Vitro.* 39, 104-10.
- Watson, N.** (1988). A new revision of the sequence of plasmid pBR322. *Gene*, 70(2), 399-403.
- Weyermann, J.**, Lochmann, D. & Zimmer, A. (2005) A practical note on the use of cytotoxicity assays. *Int J Pharm.* 288 (2), 369-76.
- Wong, R. S.** (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 30(1), 1-14.
- Xu, J.**, Yang, Z., Dammermann, W., Zhang, L., Guse, A. H., & Zhang, L. H. (2006). Synthesis and agonist activity of cyclic ADP-ribose analogues with substitution of the northern ribose by ether or alkane chains. *Journal of medicinal chemistry*, 49(18), 5501-5512.
- Yang, P.**, Guo, M. (1999). Interactions Of Organometallic Anticancer Agents with Nucleotides and Dna. *Coordination Chemistry Reviews.* 185–186, 189–211.

- Yu, J. J.,** Wang, L. M., Guo, F. L., Liu, J. Q., Liu, Y., Jiao, N. (2011). SolventFree Amination of Secondary Benzylic Alcohols with N-Nucleophiles Catalyzed by FeCl₃. *Synthetic Communications*. 41, 1609–1616.
- Zancan, P.,** Rosas, A. O., Marcondes, M. C., Marinho-Carvalho, M. M., & Solapenna, M. (2007). Clotrimazole inhibits and modulates heterologous association of the key glycolytic enzyme 6-phosphofructo-1-kinase. *Biochemical pharmacology*, 73(10), 1520-1527.
- Zhang, Y. K.,** Plattner, J. J., Easom, E. E., Jacobs, R. T., Guo, D., Sanders, V., ... & Yang, Y. (2015). Benzoxaborole antimalarial agents. Part 4. Discovery of potent 6-(2-(alkoxycarbonyl) pyrazinyl-5-oxy)-1, 3-dihydro-1-hydroxy-2, 1-benzoxaboroles. *Journal of medicinal chemistry*, 58(13), 5344-5354.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ali KURUÇAY

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (İngilizce)
- **Y. Lisans** : 2019-2022 İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

ÇALIŞMA ALANLARI

- Hücre kültür
- Antikanser
- Antimikrobiyal
- Genetik
- Biyouyumluluk
- N-Heterosiklik Karbenler

TEZDEN TÜRETİLEN BİLDİRİLER

1. Kuruçay, A.; Aktaş, A.; Noma, S.A.A.; Gök, Y.; Ateş, B.; (2021) Synthesis, characterization and biological properties of benzimidazolium salts containing (3-(methyl)phenyl)boronic acid group. 5th International Organic Chemistry Congress, İnönü University, Malatya

YAYINLAR

1. Gürses, C., Uyan, M., Kuruçay, A., & Paşahan, A. (2021). The Preparation of Various Tear-Containing Creams and Investigation of Their Antibacterial Properties. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, 9(3), 873-885.
2. Hssain, A. H., Bulut, N., Ates, T., Koytepe, S., Kuruçay, A., Kebiroglu, H., & Kaygili, O. (2022). The experimental and theoretical investigation of Sm/Mg co-doped hydroxyapatites. *Chemical Physics Letters*, 139677.
3. Karaaslan Ayhan, N., Karaaslan Tunc, M. G., Noma, S. A. A., Kurucay, A., & Ates, B. (2022). Characterization of the antioxidant activity, total phenolic content, enzyme inhibition, and anticancer properties of *Achillea millefolium* L.(yarrow). *Instrumentation Science & Technology*, 1-14.

4. Hssain, A. H., Bulut, N., Ates, T., Koytepe, S., Kuruçay, A., Kebiroglu, H., & Kaygili, O. (2022). Experimental characterization and theoretical investigation of Zn/Sm co-doped hydroxyapatites. *Materials Today Communications*, 103850.

BİLDİRİLER

1. Kuruçay, A.; Noma, S.A.A.; Ulu, A.; Demirel Topel, S.; Asiltürk, M.; Ateş, B.; (2021) L-Asparaginase Immobilization on GlycidoxypropyltrimethoxysilaneFunctionalized Upconverting Nanoparticles (UCNPs) via Covalent Interaction with Enhancing Activity. 3rd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies Congress

