



**YENİ İMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE AROMATAZ İNHİBİSYON
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Gökay ÇETİNER

Eskişehir 2022

**YENİ İMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE AROMATAZ İNHİBİSYON
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gökay ÇETİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mayıs 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI



ÖZET

YENİ İMİDAZOL TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve AROMATAZ İNHİBİSYON ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gökay ÇETİNER

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2022

Danışman: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Androjenlerin östrojenlere dönüştürülmesiyle östrojen biyosentezinden sorumlu olan bir sitokrom P450 hemoproteini olan Aromataz, hormona bağımlı meme kanseri tedavisinde dikkat çekici bir unsur olmuştur. Aromataz inhibitörlerinin keşfi, meme kanserinin yeni terapötik tedavilerinin tanımlanması açısından önemli bir yaklaşımı temsil etmektedir. Bu bağlamda, bir dizi imidazol türevi tasarlanmış, sentezlenmiş ve MTT tahlili ile insan meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 üzerinde *in vitro* olarak değerlendirilmiştir.

Bileşik **1a**, **1b** ve **1d**'nin MCF-7 hücre hattına karşı referans ilaç cisplatinden daha etkili olduğu bulunmuştur. Bileşiklerin L929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin oldukça düşük ve bileşiklerin oldukça seçici olduğu görülmüştür. MCF-7 hücre hattı üzerinde etkili olan **1a**, **1b**, **1d** ve **1k** kodlu bileşiklerin aromataz enzimi üzerindeki inhibisyon potansiyelleri değerlendirilmiş olup, bileşiklerin referans ilaç letrozol ile benzer etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, en iyi aktif bileşikler ile enzimin aktif bölgesi arasındaki etkileşimler, moleküler doking çalışması ile analiz edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, bu bileşiklerin, yeni bir steroidal olmayan aromataz inhibitörleri sınıfının geliştirilmesi için ilginç bir yol gösterici olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: İmidazol, Antikanser, MCF-7, Aromataz.

ABSTRACT

SYNTHESIS of NEW IMIDAZOL DERIVATIVES and INVESTIGATION of AROMATASE INHIBITION EFFECTS

Gökay ÇETİNER

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Institute of Health Sciences, June 2022

Advisor: Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY

Aromatase, a cytochrome P450 hemoprotein that is responsible for oestrogen biosynthesis by conversion of androgens into oestrogens, has been an attractive target in the treatment of hormone-dependent breast cancer. The exploration of innovative aromatase inhibitors represents an important approach for the identification of new therapeutic treatments of breast cancer.

In this respect, a series of imidazole derivatives was designed, synthesized and were evaluated *in vitro* on the human breast cancer cell line MCF-7 by MTT assay. In order to determine the selectivity of the compounds, their cytotoxic effects were also investigated on the L929 healthy fibroblast cell line. Compounds **1a**, **1b** and **1d** were found to be more effective than the reference drug cisplatin against the MCF-7 cell line. It is seen that the cytotoxic effects of the compounds on the L929 cell line are quite low and the compounds are found to be highly selective. The inhibition potentials of the **1a**, **1b**, **1d** and **1k** coded compounds, which were effective on the MCF-7 cell line, on the aromatase enzyme were evaluated and it was found that the compounds had similar effects with the reference drug letrozole. Further, the interactions between the best active compounds and the active site of the enzyme were analyzed through *docking* study.

The obtained results allow to consider these compounds as an interesting lead for the development of a new class of non-steroidal aromatase inhibitors.

Keywords: Imidazole, Anticancer, MCF-7, Aromatase.

TEŐEKKÖR

27/06/2022

Desteklerinden dolayı danışman hocam Prof. Dr. Yusuf ÖZKAY'a; Yasin BAYRAK hocama; Doç. Dr. Ulviye ACAR ÇEVİK'e; Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN ve Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI hocama teŐekkürlerimi sunarım.

27/06/2022

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Gökay ÇETİNER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BAŞLIĞI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1.1. Meme Kanseri.....	2
1.1.1. Etiyoloji.....	3
1.1.2. Meme Kanseri Tedavisi.....	3
1.1.2.1. <i>Aromataz İnhibitörleri</i>	4
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	7
2.1. İmidazollerin Genel Özellikleri.....	7
2.1.1. İmidazol halkasının biyolojik önemi ve imidazol içeren bazı ilaç molekülleri.....	8
2.2. İmidazollerin Genel Sentez Yöntemleri.....	9
2.3. Aromataz İnhibisyonu Çalışmalarına Konu Olmuş İmidazol Türevleri.....	12

3. GEREÇLER.....	19
3.1. Kullanılan Cihazlar.....	20
4. YÖNTEMLER.....	21
4.1. Sentez Çalışmaları.....	21
4.1.1. 4,5-Disübstitüe-2-(5-sübstitüefuran/tiyofen-2-il)-1H-imidazol (1a-l).....	21
4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması.....	21
4.3. Erime Noktalarının Tespiti.....	21
4.4. ¹H-NMR Spektrumlarının Alınması.....	21
4.5. ¹³C-NMR Spektrumlarının Alınması.....	21
4.6. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi.....	22
4.6.1. Hücrelerin çoğaltılması.....	22
4.6.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi.....	22
4.6.3. MTT sitotoksisite testinin uygulanması.....	22
4.7. Aromataz İnhibisyon Çalışmaları.....	23
4.8. Moleküler Doking.....	23
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR.....	25
5.1. Sentez Çalışmaları.....	25
5.1.1. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1H-imidazol (1a)....	25
5.1.2. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-nitrofuran-2-il)-1H-imidazol (1b)....	28
5.1.3. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1H-imidazol (1c)...	31
5.1.4. 4,5-Bis(4-metoksifenil)-2-(1-metil-1H-pirol-2-il)-1H-imidazol(1d).....	34

5.1.5. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1e).....	37
5.1.6. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1f).....	40
5.1.7. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1g)...	43
5.1.8. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(1-metil-1 <i>H</i> -pirol-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1h).....	46
5.1.9. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-metilfuran-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1i).....	49
5.1.10. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-nitrofuran-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1j).....	52
5.1.11. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1k).....	55
5.1.12. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(1-metil-1 <i>H</i> -pirol-2-il)-1 <i>H</i> -imidazol (1l)...	58
5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	61
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi.....	61
5.4. NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi.....	61
5.4.1. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	61
5.4.2. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	61
5.4.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi.....	62
5.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	62
5.5.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları.....	62
5.5.2. Aromataz inhibisyon çalışmaları.....	63
5.6. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi.....	64
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	67
KAYNAKÇA.....	68
ÖZGEÇMİŞ	

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 5.1. Bileşiklerin MCF-7 ve L929 hücre dizilerine ait IC ₅₀ değerleri (μM).....	63
Tablo 5.2. 1a,1b, 1d, 1k bileşikleri ve letrozol'ün aromataz enzimine karşı IC ₅₀ (μM) değerleri.....	64
Tablo 5.3. Bileşikler 1a, 1b, 1d, 1k ve letrozol'ün aromataz aktif bölgesindeki protein-ligand etkileşim enerjileri (kcal/mol) ve etkileşim tiplerinin detayları.....	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Kanser hücresi ile normal hücrelerin bölünmesi	1
Şekil 1.2. Kanser hücrelerinin sahip olduğu belirteçler.....	2
Şekil 1.3. Östrojen Biyosentezi.....	3
Şekil 1.4. İnsan meme dokusunda östrojenlerin biyosentezindeki steroidojenik yolak.....	4
Şekil 1.5. Steroidal ve Non-steroidal Aromataz İnhibitörleri.....	5
Şekil 1.6. Elde edilmesi planlanan bileşiklere ait genel sentez şeması.....	6
Şekil 2.1. İmidazol molekülünün rezonans formları.....	7
Şekil 2.2. İmidazol bileşiğinin tautomorik dönüşümü.....	7
Şekil 2.3. Histidinden histamin oluşumu.....	8
Şekil 2.4. İmidazol halkasına sahip önemli biyomoleküller.....	8
Şekil 2.5. İmidazol-benzimidazol içeren bazı ilaç molekülleri.....	9
Şekil 2.6. Debus-Radzisewski yöntemi ile imidazol sentezi.....	9
Şekil 2.7. İmidazol halkasının sentezi.....	10
Şekil 2.8. Glioksal, aldehit ve amonyaktan imidazol sentezi.....	10
Şekil 2.9. Yükseltgenme ara ürünü üzerinden imidazol sentezi.....	10
Şekil 2.10. 2,4,5-trisübsitüe imidazol türevleri sentezi	11
Şekil 2.11. 2,4,5-trisübsitüe imidazol türevleri sentezi.....	11
Şekil 2.12. Bileşik 2e'nin kimyasal yapısı	12
Şekil 2.13. İmidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole bileşiğinin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.14. 1-aril-2-[(1H-imidazol-1-il)metil]-6-sübsitüe-1H-indol türevlerinin genel yapısı.....	13
Şekil 2.15. Bileşik 13a ve 15c bileşiklerinin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.16. 5g bileşiğinin kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.17. 4-(ftalimidometil)- ve 4-(imidazol-1-ilmetil)-3-indolil-tetrahidroisokinolinon türevlerinin genel yapısı.....	14
Şekil 2.18. Flavon-imidazol yapısı içeren bileşiklerin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.19. 1,3,5-tris(imidazol-1-ilmetil) benzen bileşiğinin kimyasal yapısı ...	15
Şekil 2.20. İmidazol yapısı içeren bileşiklerin genel yapısı.....	16

Şekil 2.21. 3-(imidazol-1-ilmetil)piperidin sülfonamid yapısı içeren bileşiklerin kimyasal yapısı	16
Şekil 2.22. 4-(İmidazolilmetil)-2-aril-kinolin bileşiklerinin kimyasal yapısı...	17
Şekil 2.23. İmidazol türevi bileşiğin kimyasal yapısı	17
Şekil 2.24. İndol-imidazol yapısı taşıyan bileşiklerin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.25. Letrazol analogu bileşiklerin genel yapısı.....	18
Şekil 5.1. 1a Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	26
Şekil 5.2. 1a Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	26
Şekil 5.3. 1a Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	27
Şekil 5.4. 1b Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	29
Şekil 5.5. 1b Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	29
Şekil 5.6. 1b Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	30
Şekil 5.7. 1c Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	32
Şekil 5.8. 1c Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	32
Şekil 5.9. 1c Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	33
Şekil 5.10. 1d Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	35
Şekil 5.11. 1d Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	35
Şekil 5.12. 1d Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	36
Şekil 5.13. 1e Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	38
Şekil 5.14. 1e Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	38
Şekil 5.15. 1e Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	39
Şekil 5.16. 1f Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	41
Şekil 5.17. 1f Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu	41
Şekil 5.18. 1f Bileşiğine ait Mass spektrumu	42
Şekil 5.19. 1g Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu	44
Şekil 5.20. 1g Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	44
Şekil 5.21. 1g Bileşiğine ait Mass spektrumu	45
Şekil 5.22. 1h Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	47
Şekil 5.23. 1h Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	47
Şekil 5.24. 1h Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	48

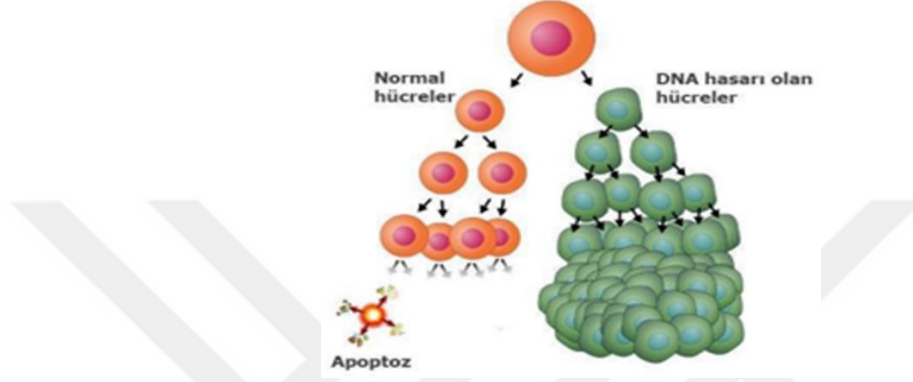
Şekil 5.25. 1i Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	50
Şekil 5.26. 1i Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	50
Şekil 5.27. 1i Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	51
Şekil 5.28. 1j Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	53
Şekil 5.29. 1j Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	53
Şekil 5.30. 1j Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	54
Şekil 5.31. 1k Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	56
Şekil 5.32. 1k Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	56
Şekil 5.33. 1k Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	57
Şekil 5.34. 1l Bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	59
Şekil 5.35. 1l Bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	59
Şekil 5.36. 1l Bileşiğine ait Mass spektrumu.....	60
Şekil 5.37. (A) Aromataz enzimi yapısında bulunan kokristal ASD'nin doğal bağlanma pozu (yeşil) ve moleküler doking validasyonu için yapılan kokristal ligand ligand ASD'nin Glide SP dokingden elde edilen bağlanma pozu (turuncu) (RMSD: 0.0741 Å) (B) Bir aromataz inhibitörü olan letrozol'ün aromataz aktif sitesindeki bağlanma pozu.....	66
Şekil 5.38. Glide SP moleküler doking çalışmasından elde edilen protein-ligand etkileşimleri. (A) Bileşik 1a , (B) bileşik 1b , (C) bileşik 1d ve (D) bileşik 1k 'in insan aromataz enzimi aktif bölgesindeki bağlanma pozları (PDB ID: 3EQM).....	66

KISALTMALAR DİZİNİ

^{13}C -NMR	: Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
DMSO- d_6	: Dötoryodimetilsülfoksit
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
E.n.	: Erime noktası
HeLa	: İnsan serviks kanser hücre hattı
^1H -NMR	: Proton Nükleer Magnetik Rezonans
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IC ₅₀	: % 50 İnhibisyon konsantrasyonu
IR	: İnfrared (Kızıl ötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
L929	: Sağlıklı fare fibroblast hücresi
MCF-7	: İnsan meme karsinoma hücresi
MHz	: Megahertz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

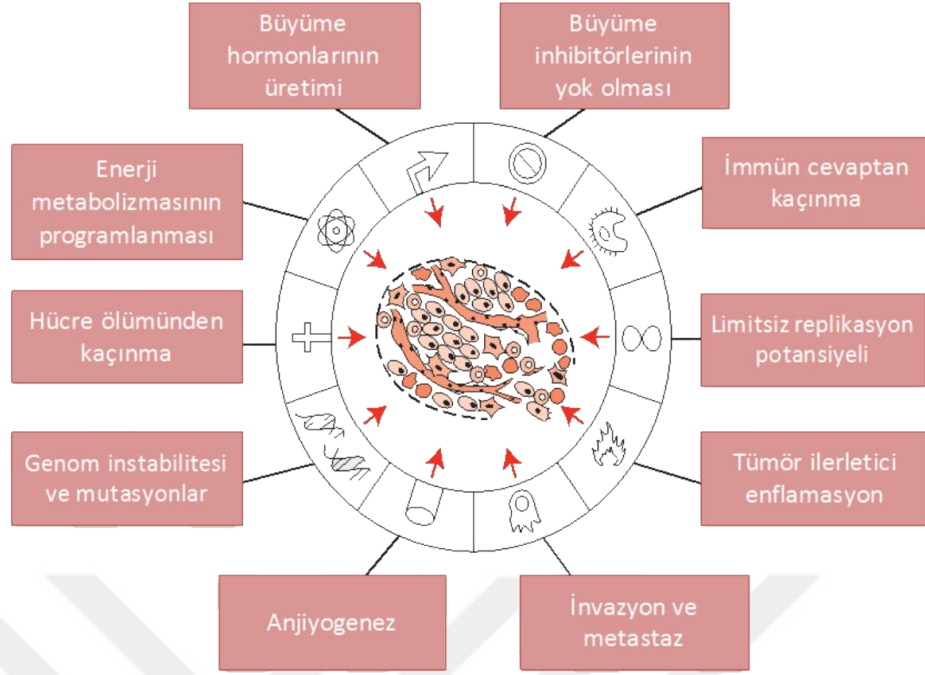
Kanser, farklı doku veya hücrelerde oluşabilen eksojen ve endojen karsinojenik ajanları ve farklı etiyolojik mekanizmaları olan bir hastalıktır. Yani kanser, hücrelerin normal bölünme kurallarına uymadan kontrolsüz şekilde çoğalmasıdır [1].



Şekil 1.1. Kanser hücresi ile normal hücrelerin bölünmesi

Kontrolsüz bölünme sırasında kanser hücresinde yapısal ve işlevsel açıdan farklılıklar meydana gelmektedir. Hücreler kanserleşince normalde yaptıkları görevleri yapamaz hale gelirken, bazen de farklı görevler yapmaya başlayabilir. Hızlı şekilde bölünen bu hücreler, çevrelerindeki hücreleri hatta bazen daha uzaktaki hücre ve dokuları işgal ederek görevlerini yapmalarına engel olmaktadır [2].

Kanser dokusunun oluşması ve daha uzaktaki doku ve organlara sıçraması için bazı belirteçlerin olduğu bulunmuş ve bu belirteçlerin kanser hastalığının oluşmasında, gelişmesinde görüldüğü tespit edilmiştir. Bu belirteçler Şekil 1.2.'de gösterilmiştir [3].



Şekil 1.2. Kanser hücrelerinin sahip olduğu belirteçler [3]

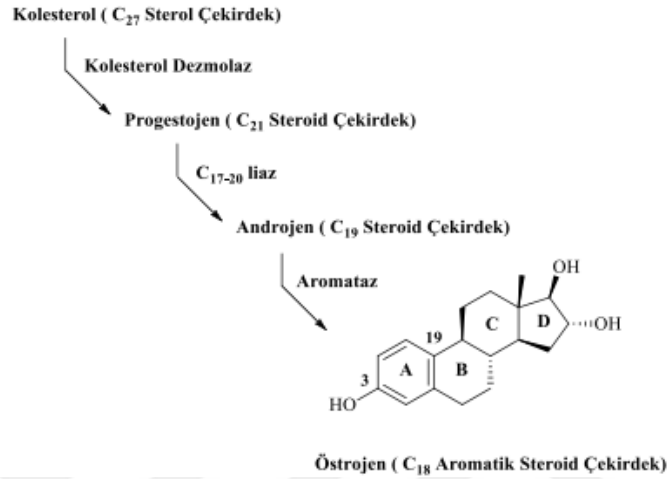
Kanser, anormal şekilde bölünmesi ve metastaz yapıp vücudun diğer bölgelerine yayılması ile karakterize bir hastalıktır. Hücrelerin kanserleşme süreçlerini belirleyen farklı özellikler tanımlanmıştır. Bunlar;

- Kontrolsüz bölünme,
- Hücrelerin büyümesini baskılayan mekanizmalardan kaçınma,
- Apoptoza karşı direnç,
- Sınırsız çoğalma özelliği,
- Yeni kılcal damarların oluşumu,
- Hücrelerin yayılım ve uzaktaki dokulara işgalinin aktivasyonu,
- Bağışıklık sisteminin etkisizleştirilmesidir [4,5].

1.1. Meme Kanseri

Meme kanseri, dokuda bulunan epitel hücrelerin malign çoğalması ile meydana gelen bir hastalıktır. Bütün dünyada en sık rastlanan kanser türüdür [6].

Östrojen hormonunun sentezi veya etkisinin geri dönüşlü inhibisyonu, meme kanserinin tedavisinde önemli yaklaşımlardır. İlaçlarla östrojen sentezinin engellenmesinde en önemli yaklaşım, etkin bölge ayırt etmeksizin seçici olarak hormon üretiminin baskılanmasıdır. Bunun en kolay yolu, östrojen sentezindeki steroid yapısında aromatik halkanın sentezinin inhibisyonu ile yapılmasıdır [7].



Şekil 1.3. Östrojen Biyosentezi [7]

1.1.1. Etiyoloji

Meme kanserinin oluşmasının kesin nedeni bilinmemektedir. Meme kanserinin oluşmasında birçok risk faktörü bulunmaktadır. Bunlar; [8]

- Ailesel faktörler [9]
- Genetik etkenler [10, 11]
- Beslenme alışkanlığı [12, 13]
- Radyasyon [14, 15]
- Hormonal faktörler [10]
- Obezitedir [16, 17].

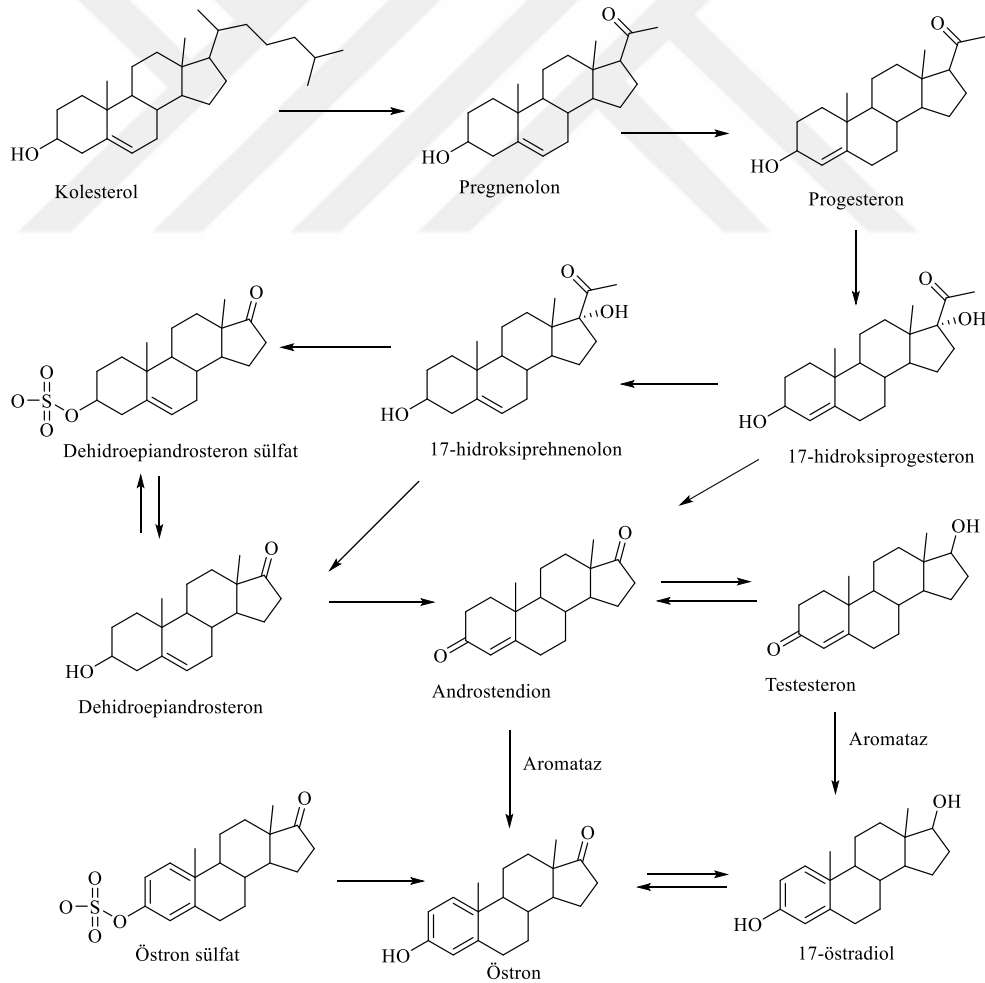
1.1.2. Meme kanseri tedavisi

Östrojen biyosentezinden sorumlu enzim olan Aromataz, hormon bağımlı meme kanseri tedavisinde özellikle cazip bir hedeftir. Meme dokusunda yüksek seviyede üretilen mitokondriyal sitokrom P450 ailesi enzimi olan aromataz, androjenin östrojene

dönüşümünü katalize eder ve östrojen reseptörünün pozitif meme kanseri tedavisinde anahtar-hedef rolü oynar [18, 19].

1.1.2.1. Aromataz İnhibitörleri

Östrojen sentezi birçok basamaktan oluşmaktadır. Her basamağı katalize eden farklı enzimler bulunmaktadır. Bu enzimlerin inhibisyonu ile östrojen sentezini inhibe etmek mümkündür. Ancak bunlar arasında en spesifik basamak androjenden östrojenin sentezinin olduğu son basamaktır. Bu basamakta, 3. konumda bulunan keton grubu 3-hidroksile dönüştürülür. 19. konumda bulunan metil grubu ise elimine edilerek A halkasının aromatikleşmesi sağlanır. Bu basamakta yer alan görevli enzim bir sitokrom P450 türevidir olan aromataz enzimidir. Aromataz, östrojen sentezinde kilit rol oynamaktadır ve endokrin kaynaklı kanserlerin tedavisinde kullanılacak ilaçların geliştirilmesinde önemli hedeflerdir [19, 20].

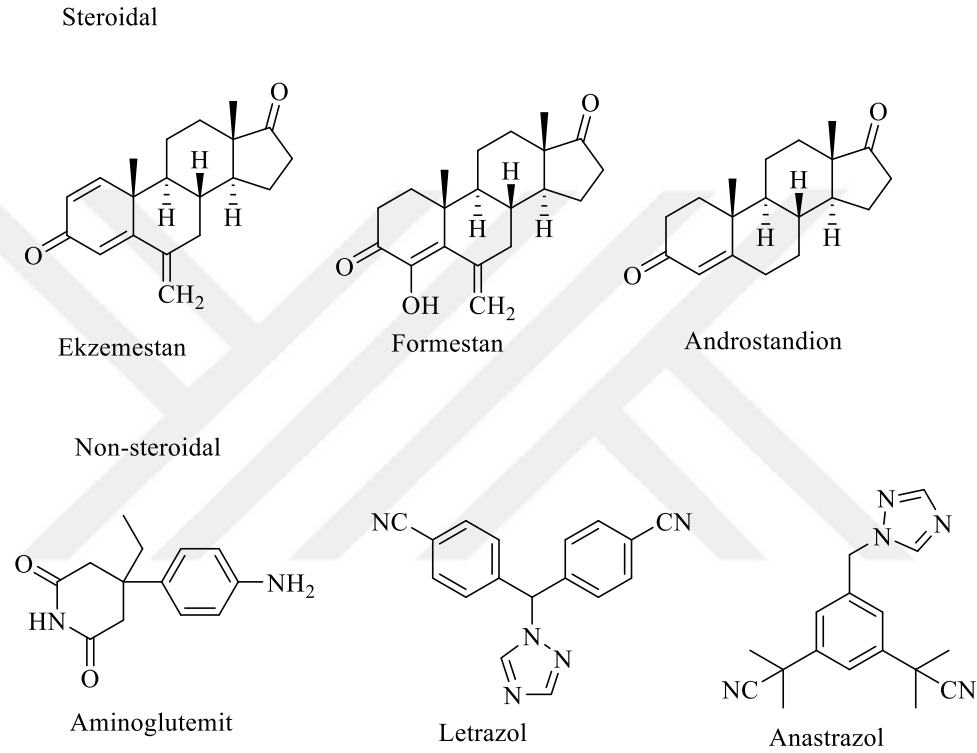


Şekil 1.4. İnsan meme dokusunda östrojenlerin biyosentezindeki steroidojenik yolak [20]

Aromataz inhibitörleri, kimyasal yapılarına ve etki mekanizmasına göre ikiye ayrılmaktadır;

Tip 1 (geri dönüşümsüz) aromataz inhibitörleri; steroidal yapıda inhibitörlerdir. Bu grupta yer alan ilaçlar aromataz enziminin aktif kıymıyla etkileşir ve enzimi inhibe eder.

Tip 2 (geri dönüşümlü) inhibitörler; azol yapısında non-steroidal ilaçlardır. Bu gruptaki ilaçlar sitokrom P450 ile ilişkilidir [21].

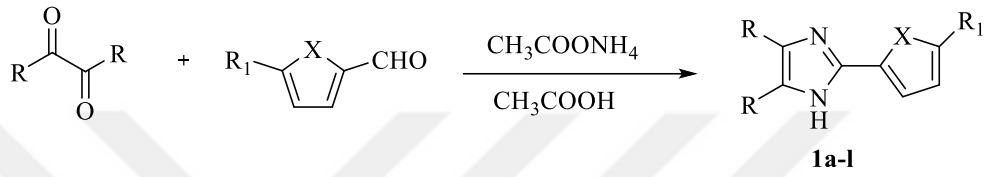


Şekil 1.5. Steroidal ve Non-steroidal Aromataz İnhibitörleri [21]

Tip 1 inhibitör bileşiklerinin kendileri önemli bir etkinliğe sahip değildir. Ancak, enzimin etkin bölgesi ile etkileştikten sonra oluşan metabolizasyon ürünleri enzimin etkin bölgesine bağlanarak, geri dönüşümsüz olarak bloke eder. Bu gruptaki ilaçlar vücuttan atıldıklarında bile geri dönüşümsüz olarak enzimi bloke ettikleri için rejenerasyon gerçekleşmez. Bundan dolayı östrojen sentezinin devamı için aromataz enzimlerinin sentezlenmesi gerekmektedir [22].

Tip 2 inhibitörler geri dönüşlü olarak aromatazları inhibe ederler. Bundan dolayı, Tip 1 inhibitörlerin aksine, etkilerinin devamı için inhibitörün devamlı ortamda bulunması gerekmektedir. Tip 2 inhibitörler, aromataz enzimin hem grubu ile etkileşerek sitokrom P450'ye bağlanır [23, 24].

Bu tez çalışması kapsamında imidazol yapısı içeren 12 adet yeni bileşik sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve HRMS spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Bileşiklerin MCF-7 (insan meme kanseri) hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Bileşiklerin seçiciliğini tespit etmek amacıyla L929 (sağlıklı fare fibroblastı) hücre hattı üzerindeki etkileri de değerlendirilmiştir. Bileşikler arasından MCF-7 hücre hattı üzerinde etkili olan türevler için aromataz inhibisyon testi uygulanmıştır. Ayrıca moleküler doking ile de en etkili olan bileşiğin aromataz enzimi ile etkileşimi gösterilmiştir.



Bileşik	X	R	R ₁
1a	-O	4-Metilfenil	-CH ₃
1b	-O	4-Metilfenil	-NO ₂
1c	-S	4-Metilfenil	-CH ₃
1d	-N-metil	4-Metilfenil	-H
1e	-O	4-Florofenil	-CH ₃
1f	-O	4-Florofenil	-NO ₂
1g	-S	4-Florofenil	-CH ₃
1h	- N-metil	4-Florofenil	-H
1i	-O	Furan-2-il	-CH ₃
1j	-O	Furan-2-il	-NO ₂
1k	-S	Furan-2-il	-CH ₃
1l	- N-metil	Furan-2-il	-H

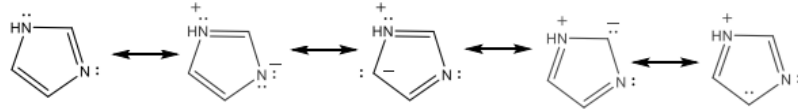
Şekil 1.6. Elde edilmesi planlanan bileşiklere ait genel sentez şeması

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. İmidazollerin Genel Özellikleri

İmidazol halkası $C_3H_4N_2$ kapalı formülüne sahip bileşiklerdir. Beyaz, renksiz bir katıdır. İki azot atomu içeren diazol yapısında aromatik bir heterosiklidir. Alkaloidler dahil olmak üzere birçok doğal ürün imidazol halkası taşımaktadır. İmidazol halkası, histamin, histidin gibi önemli biyolojik yapılarda yer alır. İmidazol ile pirimidin halkasının kaynaştırılmasıyla, doğada çok miktarda bulunan pürin halkası oluşmaktadır. İmidazol halkası beş üyeli düzlemsel bir halkadır. Hidrojen atomu her iki azot atomuna da bağlanma ihtimali olduğundan dolayı iki eşdeğer tautomeriye sahiptir. 6 pi elektron sistemine sahip olduğu ve düzlemsel olduğu için aromatik olarak sınıflandırılır [25].

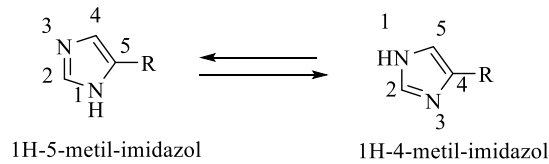
İmidazol halkasında ‘pi ’ elektronlarının oluşturduğu rezonans formları aşağıdaki gibidir [25].



Şekil 2.1. İmidazol molekülünün rezonans formları

İmidazol halkası hem baz hem de asit özellik gösterdiğinden dolayı amfoteriktir. İmidazolün pKa değeri 14.5'dir. Alkollere göre daha asidik iken fenollerden, imitlerden ve karboksilik asitlerden daha az asidiktir. Azota bağlı olan proton asidik özelliindedir [26].

Ayrıca imidazol bileşiğinin iki farklı tautomeri formu vardır. Bunun sebebi protonun her iki azot atomu üzerinde bulunabilmesidir.



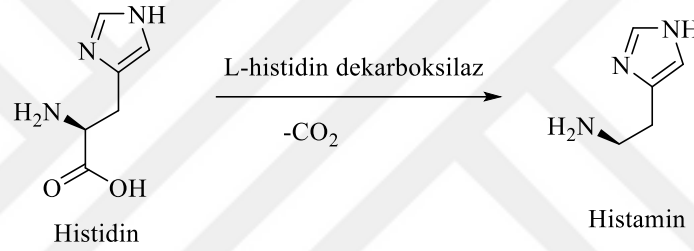
Şekil 2.2. İmidazol bileşiğinin tautomerik dönüşümü

Eğer imidazol halkasındaki proton süstitüe edilirse, tautomerik dönüşüm ortadan kalkacak ve numaralandırmanın süstitüe azot atomu üzerinden yapılması gerekecektir [27].

İmidazol halkası kimya ve farmakoloji alanında çok çalışılan bileşik gruplarından. İmidazol birçok ilaç molekülünün yapısında yer aldığından dolayı ve yüksek tedavi edici özelliklerinden dolayı oldukça ilgi çekicidir. İmidazol halkasının biyolojik özellikleri arasında antifungal, antibakteriyel, antikanser, antimikrobiyal sayılabilir. Ayrıca, glukozidaz enzimini inhibe etme özelliğinden dolayı diyabet ve lizozomal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [28].

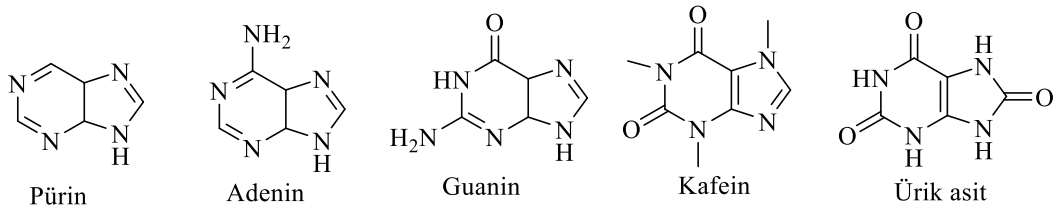
2.1.1. İmidazol halkasının biyolojik önemi ve imidazol içeren bazı ilaç molekülleri

İmidazoller, biyolojik faaliyetlerde oldukça önemlidir. Histamin ve histidin önemli biyolojik yapılarıdır ve imidazol halkası içerirler. Özellikle sinir sisteminde etkin rolü olan histamin, histidin molekülünün kimyasal yapısında yer alan karboksilik asit grubunun CO₂ olarak ayrılması sonucunda sentezlenmektedir [28].



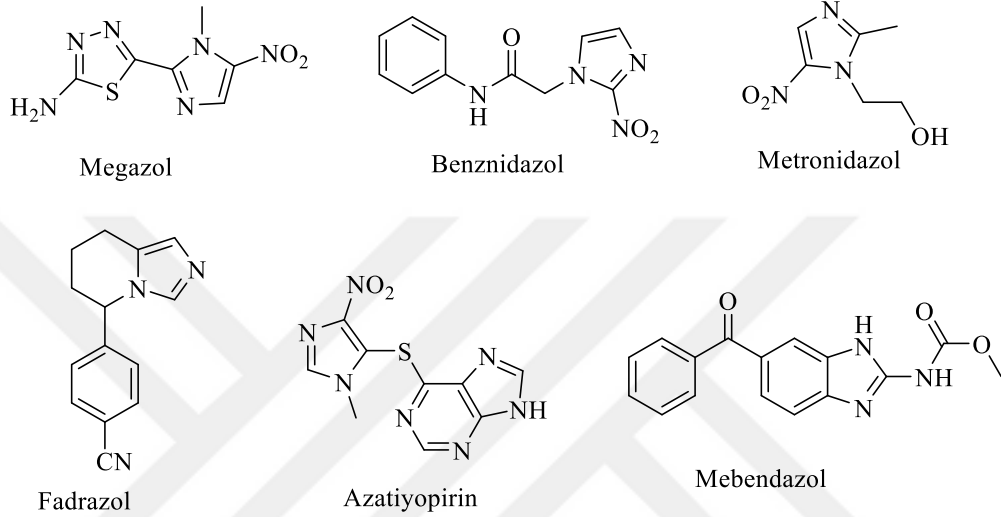
Şekil 2.3. Histidinden histamin oluşumu [28]

İmidazolün altı karbonlu hetero aromatik sistemlerle oluşturdukları bisiklik bileşikler yaşam fonksiyonlarının devamı için hayati öneme sahiptir. İmidazolün, yapısında iki azot ihtiva eden altı karbonlu hetero aromatik bir halka olan pirimidinle kaynaştığı sistemlere pürinler adı verilir. Pürin bazları DNA bazları olan adenin ve guaninin yapısında bulunmaktadır. Ayrıca imdazol halkası; ürik asit, B₁₂ vitamini ve kafein gibi farmakolojik açıdan önemli birçok molekülün yapı çekirdeğini oluşturmaktadır.



Şekil 2.4. İmdazol halkasına sahip önemli biyomoleküller

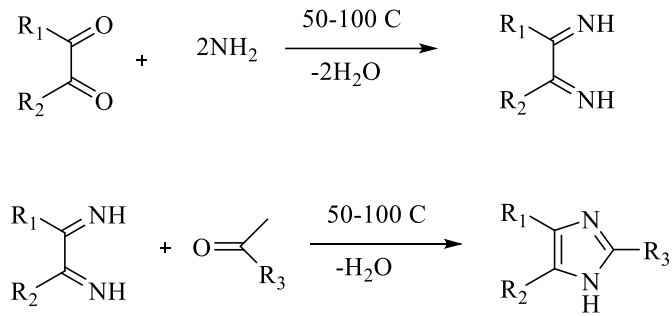
Heterosiklik yapılı bileşikler yeni biyoaktif moleküllerin tasarımında geniş ölçüde araştırılmaktadır. Heterosiklik bileşikler arasında azot ihtiva eden biyoaktif moleküller biyolojik aktivite açısından oldukça yüksek potansiyel (taşımaktadır) oluşturmaktadır. İmidazol bileşiği yapısında iki azot atomu barındırdığı için, ilaç endüstrisinin dikkatini çekmektedir ve biyolojik ve farmasötik tedavi edici moleküllerin birçoğunun yapı iskeletini oluşturmaktadır [28].



Şekil 2.5. İmidazol-benzimidazol içeren bazı ilaç molekülleri [28]

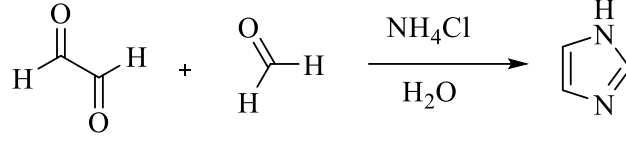
2.2. İmidazollerin Genel Sentez Yöntemleri

İmidazol halkasının klasik sentez yöntemi Debus-Radzisewski olarak bilinmektedir. Bu yöntemde imidazol halkası iki basamakta sentezlenmektedir. İlk basamakta, 1,2-diketon türevleri amonyak ile muamele yapılarak diimin yapısı elde edilir. İkinci basamakta ise, ilk basamakta elde edilen diimin yapısı aldehit türevleri ile reaksiyona sokularak imidazol halkası sentezlenir [29].



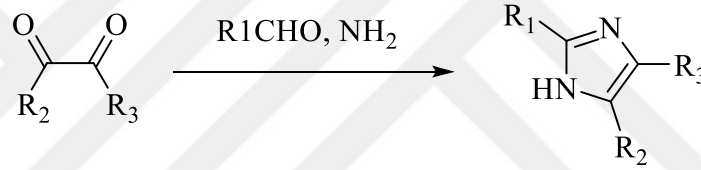
Şekil 2.6. Debus-Radzisewski yöntemi ile imidazol sentezi

Bu sentez yöntemi modifiye edilerek, formaldehitin amonyum klorür tuzunun oksaldehit ile reaksiyona girmesiyle % 85 verimle imidazol halkası sentezlenmiştir [30].



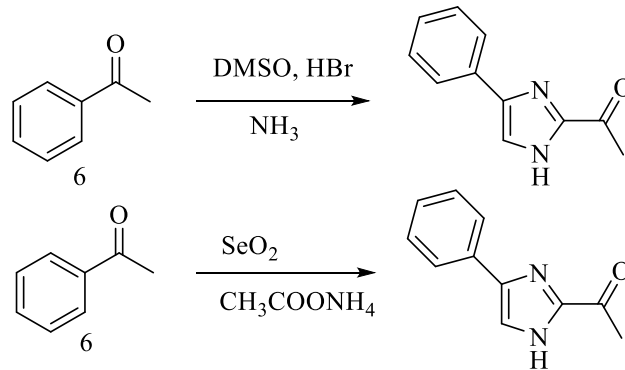
Şekil 2.7. İmidazol halkasının sentezi [30]

İmidazol ilk kez 1858 yılında Alman-İngiliz kimyacı Heinrich Debus tarafından bildirilmiş olmasına rağmen, çeşitli imidazol türevleri 1840'lı yılların başlarında keşfedilmiştir. Glioksal, formaldehit ve amonyakın, imidazol (başlangıçta olduğu gibi, glioksalin) oluşturması için yoğunlaştığı gösterilmiştir. Bu sentez, nispeten düşük verimler üretirken, hala C-ikameli imidazollerin üretilmesinde kullanılır [25].



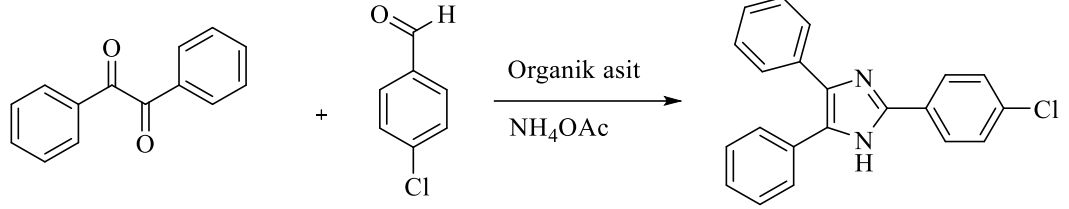
Şekil 2.8. Glioksal, aldehit ve amonyaktan imidazol sentezi [25]

Asetil (6) gruplarının yükseltgenmesiyle oluşan glioksal ara ürününe amin türevleri eklenerek gerçekleştirilen halkalanma tepkimeleri sonucu imidazol türevleri elde edilebilmektedir [31, 32].



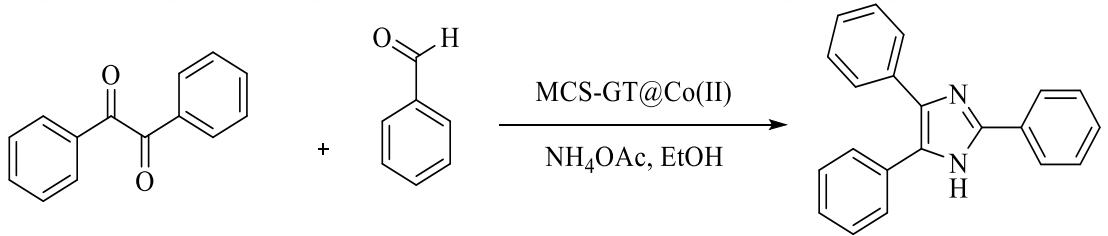
Şekil 2.9. Yükseltgenme ara ürünü üzerinden imidazol sentezi

Aromatik aldehit ile üre karışımı, etil asetoasetat ve malik asit önceden 10 dakika süreyle bir yağ banyosunda ısıtılıp sonra mikrodalga reaksiyonunda 5 dakikada 2,4,5-trisübsitüe imidazol türevleri sentezlendiği rapor edilmiştir [25].



Şekil 2.10. 2,4,5-trisübsitüe imidazol türevleri sentezi [25]

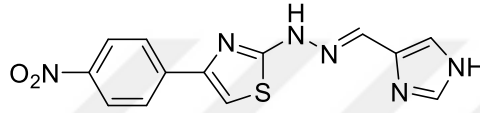
Bir başka çalışmada benzil ile aldehit, amonyum asetat karışımı ve aromatik amin varlığında katalizör eşliğinde ve çözücü olarak etanol kullanılarak 2,4,5- trisübsitüe imidazol türevleri sentezlenmiştir [25].



Şekil 2.11. 2,4,5-trisübsitüe imidazol türevleri sentezi [25]

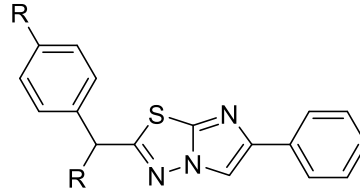
2.3. Aromataz İnhibisyonu Çalışmalarına Konu Olmuş İmidazol Türevleri

2022 yılında Osmaniye ve diğerleri tarafından imidazol ve tiyazolil-hidrazon yapısı birleştirilip yeni hibrit moleküller elde edilmiştir. Elde edilen türevlerden bileşik **2e**, MCF-7 hücre hattına karşı 0.079 ± 0.002 uM IC_{50} değeri ile en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Bileşik **2e**'nin aromataz inhibitör aktivitesi, 0.020 ± 0.002 uM'lik bir IC_{50} değerine sahipken, letrozol, aromataz enzimini 0.021 ± 0.002 uM'lik bir IC_{50} değeri ile inhibe etmiştir. Ek olarak, **2e**'nin hücre döngüsünün S fazında DNA sentezini de engellediği bulunmuştur. Akış sitometrisi çalışmasında bileşiklerin apoptotik potansiyelleri belirlenmiştir [33].



Şekil 2.12. Bileşik **2e**'nin kimyasal yapısı

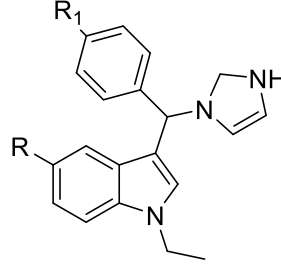
2021 yılında Avvaru ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada benzothiazol ve imidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole yapısına sahip bileşikler sentezlenmiştir. Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından bileşiklere ön antikanser tarama testi yapılmış ve bileşiklerin güçlü antilösemik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Türevlerin aromataz enzimi (Protein Veri Bankası: 3S7S) üzerindeki yerleştirme çalışmaları, Letrozol ve Exemestane ile karşılaştırılabilir iyi yerleştirme puanları ile aktif bölgede tersine çevrilebilir etkileşimler gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, seçilen türevler, moleküler yerleştirme çalışmalarına dayalı olarak HeLa hücre hattı üzerinde antikanser aktivitesi açısından test edilmiştir [34].



Şekil 2.13. İmidazo[2,1-b][1,3,4]thiadiazole bileşiğinin kimyasal yapısı

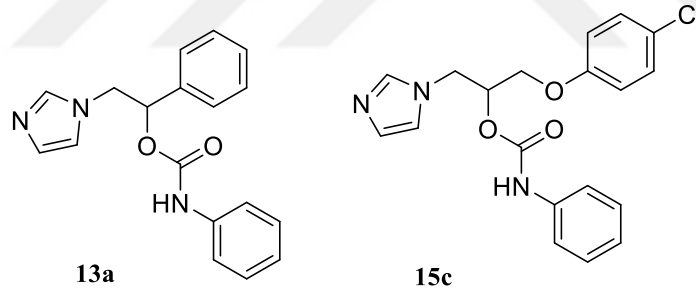
2021 yılında Shaheen ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada indol-azol bazlı bileşiklerin aromataz aktivitesi arasında kantitatif yapı-etki ilişkisi (Qsar) İlaç Teorileri ve Kimya bilişimi (DTC) kullanılarak belirlenmiştir. Yüksek elektronegatiflik ve iyonlaşma potansiyeli gibi elektronik parametrelerin anti aromataz üzerinde olumsuz etkisi olduğu tespit edilmiştir. İmidazol ve 1,2,4-triazol halkaları arasında imidazol

çekirdeği düşük elektrostatik potansiyeli nedeniyle daha uygun olduğu tespit edilmiştir [35].



Şekil 2.14. 1-aryl-2-[(1H-imidazol-1-il)metil]-6-sübstitüe-1H-indol türevlerinin genel yapısı

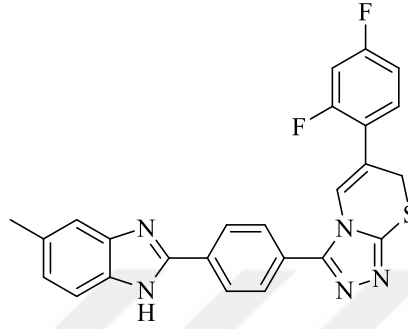
2021 yılında Ammazalorso ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada karbamat yapısı taşıyan imidazol ve triazol yapısı taşıyan bileşikler tasarlanıp, sentezlenmiştir. Bileşikler, *in vitro* florometrik yöntem ile insan aromataz enzimi üzerinde etkileri letrazol ile karşılaştırılmıştır. En aktif türevler **13a** ve **15c**'nin etkisi daha sonra MTT tahlili, sitotoksisite tahlili (LDH salımı) ve hücre döngüsü analizi ile insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerinde *in vitro* olarak değerlendirilmiş ve hücre canlılığının ve düşük mikromolar'ın doza bağımlı bir inhibisyon profilini ortaya çıkardığı tespit edilmiştir [36].



Şekil 2.15. Bileşik 13a ve 15c bileşiklerinin kimyasal yapısı

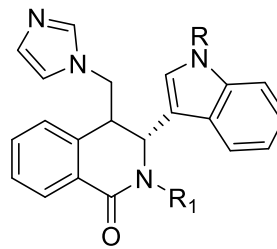
2020 yılında Çevik ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, yeni aromataz enzim inhibitörlerini belirlemek için yedi adet 3-[4-(5-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)fenil]-6-(sübstitüe edilmiş fenil)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazin türevleri sentezlenmiştir. İlk olarak, sentezlenen bileşiklerin MCF-7 hücre hattı üzerindeki inhibitör aktivitesini belirlemek için bir 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) tahlili yapılmıştır. Aromataz önleyici aktivite, MCF-7 hücre hattı üzerinde aktif **5b**, **5c**, **5e** ve **5g** bileşikleri için belirlenmiştir. Bileşik **5g**'nin, önemli aromataz önleyici aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ($IC_{50} = 0.037 \pm 0.001 \mu M$). İlginç bir şekilde, fenil halkasının 2 ve 4 pozisyonlarında bir difloro ikamesi taşıyan bu bileşik, normal sağlıklı bir hücre hattına (NIH3T3) önemli sitotoksisite olmaksızın en güçlü aromataz

inhibitör aktivitesini sergilediği bulunmuştur. Ayrıca, en iyi aktif bileşikler ile enzimin aktif bölgesi arasındaki etkileşimler, bir yerleştirme çalışması yoluyla analiz edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, benzimidazol-triazolotiadiazin türevlerinin yeni bir aromataz inhibitörü sınıfı olarak daha da geliştirilmesi gereken umut verici bileşikler olduğunu belirlemiştir [37].



Şekil 2.16. 5g bileşiğinin kimyasal yapısı

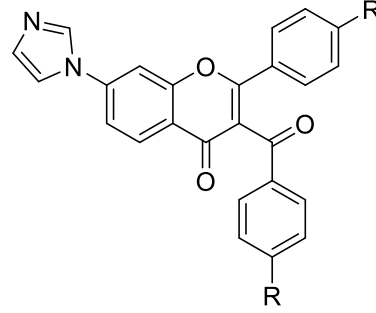
2019 yılında Nikola ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, homoftalikanhidridin 1H-indol-3-karbaldiminlerle reaksiyonu ile trans- ve cis-2-alkil-3-indolil-1-oksetetrahidroisokinolin-4-karboksilik asit türevleri elde edilmiştir. Reaksiyonun stereokimyası, ¹H-NMR spektroskopisi vasıtasıyla araştırılmıştır. Bileşiklerin anti aromataz aktivitesi test edilmiştir ve ön sonuçlar, 50 uM konsantrasyonda ftalimidometilizokinolinon trans-6b'nin aromataz enzim aktivitesini %40 oranında azalttığını göstermiştir [38].



Şekil 2.17. 4-(ftalimidometil)- ve 4-(imidazol-1-ilmetil)-3-indolil-tetrahidroisokinolinon türevlerinin genel yapısı

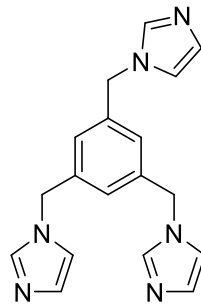
2018 yılında Sable ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, flavon yapısı imidazol ve triazol heterosiklik bileşikleri ile birleştirilmiştir. Flavon türevlerinin imidazol (2a, 2b, 2c) ve triazol (3a, 3b, 3c) çekirdeği ile sentezlenmesi, TLC, IR, NMR ve kütle spektrometresi verileri ile teyit edilen modifikasyonlarla temel bir hetero-aromatik sistem olarak vurgulanmıştır. Sentezlenen bileşik, steroidal olmayan aromataz inhibitörleri olarak incelenmiş ve SRB tahlili yoluyla MCF-7 hücre hattına karşı *in vitro* göğüs kanseri

karşıtı aktivite açısından değerlendirilmiştir. Nitro ikameli triazol türevi **3a**'nın (H-bağını kabul eden grup), standart ilaç letrozole kıyasla daha aktif olduğu bulunmuştur [39].



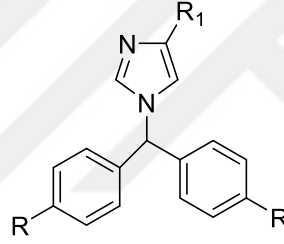
Şekil 2.18. Flavon-imidazol yapısı içeren bileşiklerin kimyasal yapısı

2018 yılında Fatemeh ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, yeni aromataz inhibitörleri Molecular Operating Environment (MOE) yazılımı tarafından tasarlanmış ve tek aşamalı bir SN2 reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Bu bileşikler, erime noktası, ¹H- ve ¹³C-NMR, element analizi ve kütle spektrumları ile karakterize edilmiştir. Bu bileşiklerin *in vitro* ve *in vivo* aromataz inhibisyonu, Estron ELISA testi kullanılarak ve androstenedion ile indüklenen uterus hipertrofinin inhibisyonu ölçülerek değerlendirilmiştir. Aromataz inhibisyonunun seçiciliği, aldosteron ve kortizolün plazma konsantrasyonları üzerinde ACTH uyarısının inhibisyonu ile araştırılmıştır. Yerleştirme simülasyonları, dört yeni azol türevinin enzim aktif bölgeleriyle verimli bir şekilde etkileşime girebileceğini göstermiştir. *In-vitro* aromataz inhibisyon tahlili, 1,3,5-tris(imidazol-1-ilmetil)benzen (**3b**) ve 1,3-Bis(imidazol-1-ilmetil)benzen (**3d**) bileşiklerinin aromatazı etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir, (IC₅₀ 0,2 nM ve 6,8 nM). Bu değerler bilinen aromataz inhibitörü letrozol (IC₅₀ 0.3 nM) ile benzer güçtedir [40].



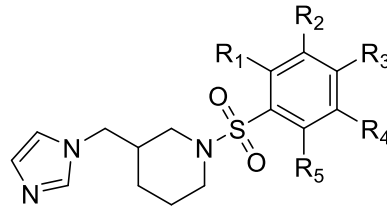
Şekil 2.19. 1,3,5-tris(imidazol-1-ilmetil)benzen bileşiğinin kimyasal yapısı

2017 yılında Adhikari ve diğeri tarafından yapılan çalışmada, umut verici aromataz inhibitör aktiviteleri için bir dizi letrozol bazlı analogun önemli yapısal özelliklerini araştırmak için birkaç kemometrik yaklaşım kullanılmıştır. Tüm teknikler tek tek istatistiksel olarak doğrulanır ve sırayla yapı-aktivite ilişkisi (SAR) gözlemleriyle birlikte birbirleriyle doğrulanmıştır. İmidazol halkasının hem demiri ile etkileşime girdiği bulunmuştur, oysa triazol halka sistemi herhangi bir etkileşim göstermemiştir. Ayrıca, imidazol işlevi 1,2,3-triazolden daha iyidir, oysa 1,2,3-triazol 1,2,5-triazol halka sisteminden daha iyidir. Ek olarak, azol halkasındaki hacimli bir aril ikamesi, azol nitrojenlerinin oryantasyonu ve siyanofenil fonksiyonu ile birlikte aromatazın inhibisyonunda önemli bir role sahiptir. Ayrıca, fenil kısmında ikame edilen bir siyano grubu, hidrojen bağı etkileşimleri oluşturmak için enzim aktif bölgesinde Arg115, Met374 ve Ser478 ile etkileşime girdiği tespit edilmiştir [41].



Şekil 2.20. İmidazol yapısı içeren bileşiklerin genel yapısı

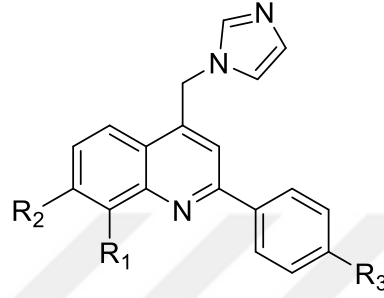
2016 yılında Matteo ve diğeri tarafından yapılan çalışmada, 3-(imidazol-1-ilettil)piperidin sülfonamid yapısı içeren bileşikler tasarlanıp, sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin aromataz enzim inhibisyon değerleri tespit edilmiştir. Bileşiklerin nm düzeyde etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [42].



Şekil 2.21. 3-(imidazol-1-ilettil)piperidin sülfonamid yapısı içeren bileşiklerin kimyasal yapısı

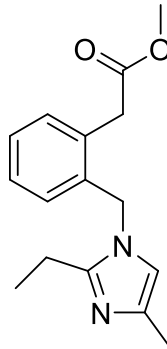
2016 yılında Ghodsi ve diğeri tarafından yapılan çalışmada, bazı yeni kinolin türevleri, aromataz inhibitörleri ve meme kanseri önleyici maddeler olarak biyolojik aktivitelerini değerlendirmek için tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Kinolinler **8a-g**'nin

insan meme kanseri MCF-7 ve T47D hücre hatlarına karşı sitotoksitesini değerlendirilmiştir. Tüm **8a-g** bileşiklerinin, aromataz mRNA'sını MCF-7 hücrelerinden daha az eksprese eden T47D'ninkilere kıyasla MCF-7 hücrelerine karşı daha sitotoksik olduğu tespit edilmiştir. Aromataz aktivitesi üzerindeki etkileri de açıklanmaktadır. Sonuç olarak, bileşik **8b**'nin aromataz enzim aktivitesini referans ilaç letrozol'den daha fazla inhibe ettiği gösterilmiştir [43].



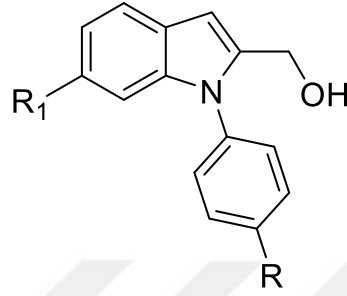
Şekil 2.22. 4-(İmidazolilmetil)-2-aril-kinolin bileşiklerinin kimyasal yapısı

2014 yılında Dai ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, aromataz inhibitörleri, benzilkarbazol, benzilimidazol gibi yeni yapıları ve kimyasal varlıkları araştırmak için hem fenil hem de imidazol halkaları üzerinde farklı sübstitüentlere sahip türevler sentezlenmiş ve aromataz inhibitörleri değerlendirilmiştir. Fenil halkasında karboksil ve ester gruplarına sahip bileşiklerin daha iyi inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. İmidazole alkil gruplarının eklenmesi aromataz engelleyici aktiviteyi arttırabileceği düşünülmüştür. Çoğu bileşikler, aminoglutetimid ve tamoksifenden daha güçlü aktivite göstermiştir [44].



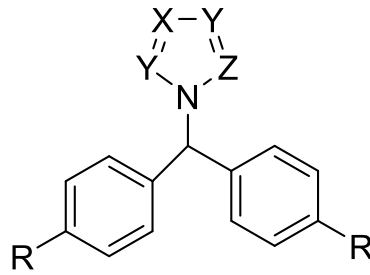
Şekil 2.23. İmidazol türevi bileşiğin kimyasal yapısı

2013 yılında Wang ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, yeni indol-imidazol türevleri serisi hazırlanmış ve aromataz üzerinde *in vitro* olarak aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, protonun veya küçük bir elektron çeken grubun fenil halkasının para-pozisyonu, inhibitör aktiviteleri arttırdığı tespit edilmiştir [45].



Şekil 2.24. İndol-imidazol yapısı taşıyan bileşiklerin kimyasal yapısı

2011 yılında Doiron ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada, letrazol'ün bir dizi bis- ve mono-benzonitril veya fenil analogları, (1,2,3 ve 1,2,5)-tri-azol veya imidazol, türevleri sentezlenmiş ve anti-aromataz aktiviteleri açısından taranmıştır. Sübstitüe edilmemiş 1,2,3-triazol türevi bileşik, letrazol aromataz inhibisyonununkine benzer bir inhibitör aktivite sergilemiştir [46].



Şekil 2.25. Letrazol analogu bileşiklerin genel yapısı

3. GEREÇLER

Eter	: Sigma-Aldrich, Almanya
Petrol eteri	: Merck, Almanya
Ethanol	: Tekim, Türkiye
Etilasetat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Silikajel 60 F254 kaplıalüminyum İTK plağı	: Merck, Almanya
Tripsin	: Sigma, Almanya
Fetal bovine serum	: Capricorn, Güney Amerika
DMEM	: Sigma, Almanya
RPMI	: Sigma, Almanya
PBS	: Gibco, BirleşikKrallık
MTT Boyası	: Sigma, Almanya
DMSO	: Sigma, Almanya
Amonyum asetat	:Sigma, Almanya
Asetik asit	:Sigma, Almanya
4,4'-dimetilbenzil	:Sigma, Almanya
α -fural	: Sigma, Almanya
4,4'-diflorobenzil	:Sigma, Almanya
Furfural	:Sigma, Almanya
5-Metilfuran-2-karbaldehit	:Sigma, Almanya
5-Nitrofuran-2-karbaldehit	:Sigma, Almanya
Tiyofen-2-karbaldehit	:Sigma, Almanya
5-Metiltiyofen-2-karbaldehit	:Sigma, Almanya
5-Nitrotiyofen-2-karbaldehit	:Sigma, Almanya

3.1. Kullanılan Cihazlar

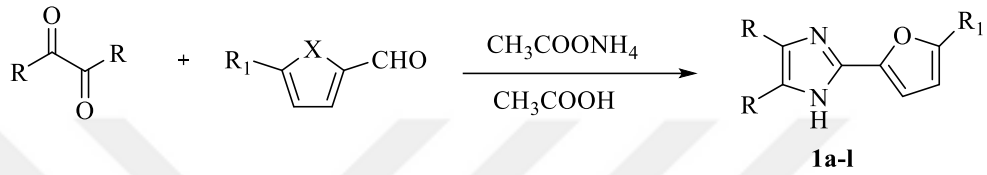
Magnetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcı	:Heidolph, MR 3003, Almanya
Elektronik terazi	:Schimadzu, Libror EB-330 HU, Japonya
Ultraviyole lambası	:Camag, Cabinet, İsviçre
Erime derecesi tayini cihazı	:Electrothermal, 9100 Digital, ABD
Infrared spektrofotometresi	:Shimadzu, IR Prestige-21, Japonya
Nükleer magnetik rezonans spektrometresi	:Bruker, UltraShield300 MHz, ABD
Kütle spektrometresi	:Schimadzu, 8040 LC-MS-MS, Japonya
Mikroplate reader	:Biotek, ABD
Den 1 McFarland Densitometer	:Biosan, Letonya
Vortex	:Wisemix, Kore
Biological Safety Cabinet	:Class II TypeA2 (CHC-222A2-06), Güney Kore
Etüv	:Heraeus, Almanya

4. YÖNTEMLER

4.1. Sentez Çalışmaları

4.1.1. 4,5-Disübstitüe-2-(5-sübstitüefuran/tyofen-2-il)-1H-imidazol (1a-l)

Benzil türevi bileşik (0.02 mol), furan veya tyofen aldehit türevi bileşik (0.02 mol), amonyum asetat (0.12 mol) ve 10 mL asetik asit karışımı geri çeviren soğutucu altında 3 saat karıştırılarak kaynatılır. Karışım buzlu suya dökülerek ürün çöktürülür. Ham ürün bol miktar su ile yıkanır ve kurutulur. Ürün sulu etanolden kristallendirilir.



4.2. İTK Çalışmaları ve Rf Değerlerinin Saptanması

Sentez çalışmalarında reaksiyonun bitip bitmediği İTK ile kontrol edilmiştir. Deney balonu içerisinden alınan numuneler etanol içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra kılcal boru yardımıyla adsorban olarak seçilen silikajel 60 F254 kaplı alüminyum plaklara uygulanmıştır. Hareketli faz olarak farklı çözücü karışımları kullanılmış ve en uygun hareketli faz olarak petrol eteri:etil asetat (3:1) seçilmiştir. Lekelerin tespit edilmesinde ultraviyole ışığı (254 nm ve 366 nm) kullanılmıştır.

4.3. Erime Noktalarının Tespiti

Sentezlenen final bileşiklerinin erime noktaları tespit edilmiştir. Toz edilen bileşik, bir ucu kapatılmış kapillere konular ve Elektrotermal erime noktası tayini cihazında bileşiklerin erimeye başladığı değerler kaydedilmiş ve düzeltilmemiştir.

4.4. ¹H-NMR Spektrumlarının Alınması

Tez çalışması kapsamında sentezlenen yeni final ürünlerin yapılarını aydınlatmak amacıyla ¹H-NMR spektrumları çekilmiştir. Bunun için, 5 mg sentez ürünü 0.35 ml dötoryo DMSO ile çözündürülmüş ve 500 MHz'lik NMR spektrometresine konularak spektrumlar elde edilmiştir.

4.5. ¹³C-NMR Spektrumlarının Alınması

Tez çalışması kapsamında sentezlenen yeni final ürünlerin yapılarını aydınlatmak amacıyla ¹³C-NMR spektrumları çekilmiştir. Bunun için, 5 mg sentez ürünü 0.35 ml

döteryo DMSO ile çözüldürülmüş ve 125 MHz'lik NMR spektrometresine konularak spektrumlar elde edilmiştir.

4.6. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi

4.6.1. Hücrelerin çoğaltılması

Bileşiklerin antikanser etkinliklerini belirlemek amacıyla MCF-7 hücre hattı ve bileşiklerin seçiciliklerinin tespit edilmesi amacıyla L929 hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hatlarının çoğaltılması için 2-3 günde bir pasajlama ve besiyeri değişimi yapılmıştır. Hücreler inkübatörde çoğaltılmıştır. Flakslarda bulunan hücreler fosfat tamponu ile yıkanmıştır ve yıkama çözeltisi pipetle ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Flakslara tripsin-EDTA (1X) ilave edilmiş ve hafifçe çalkalanmıştır. Daha sonra inkübatörde (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C). hücreler yaklaşık 5 dakika bekletilmiştir. İnkübatörden alınan flakslara 20–25 mL besiyeri ilave edilmiş ve hücrelerin süspansiyonunda olması sağlanmıştır. Daha sonra süspansiyonda hücreler bölünerek farklı flakslara bölünmüş ve tekrar inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).

4.6.2. Hücrelerin plakalara ekilmesi

İnkübasyondan alınan flakslar, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisi ile uzaklaştırılması için hafifçe çalkalanmıştır. Flaska tripsin-EDTA çözeltisi (1X) ilave edilmiş ve inkübatörde (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C) 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra flaksların içine besiyeri ilave edilmiş ve santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpündeki hücrelerden alınıp otomatik hücre sayma cihazında sayılmıştır. Daha sonra 96 kuyucuklu plakalara hücreler ekilmiş ve 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).

4.6.3. MTT sitotoksikite testinin uygulanması

Flakslar 24 saat sonunda alınarak ters çevrilmiş ve besiyeri uzaklaştırılmıştır. Bileşikler 1 mM-0.000316 mM olarak sekiz konsantrasyonda hazırlanmıştır. Pozitif kontrol ile 96 kuyucuklu plakalara uygulanmıştır. Tekrar 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır (%5 CO₂, %95 nem ve 37 °C). Bu süre sonunda flakslardan besiyeri uzaklaştırılmıştır. Daha sonra hücreler fosfat tamponu ile yıkanmıştır. MTT çözeltisi hazırlanmış ve plakadaki her kuyucuğa 100 µL ilave edilmiştir. 3 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Plakalardaki besiyeri uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100 µL DMSO ilave edilmiştir. ELISA'da 540 nm' de OD değerleri okunmuştur. Daha sonra bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

4.7. Aromataz İnhibisyon Çalışmaları

Bu yöntem kit prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir (BioVision, Aromataz (CYP19A) İnhibitör Tarama Kiti (Fluorometrik)). Bileşikler, dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözüldürüldü ve 10^{-3} - 10^{-9} M arasında değişen en az 7 konsantrasyonda ilave edildi. Rekombinant insan aromataz stoğu, 1 mL Aromataz tahlil tamponu ile yeniden oluşturularak hazırlandı. İçerikler vorteks ile iyice karıştırılarak homojen bir çözelti elde edildi ve çözelti 15 ml'lik konik tüpe aktarıldı. Hacim, Aromataz Tahlil Tamponu ile 2450 ul'ye getirildi ve toplam 2.5 ml'lik bir nihai hacim için 50 ul NADPH Üretim Sistemi (100X) ilave edildi. Letrozol, pozitif inhibisyon kontrolü olarak kullanıldı. Çözücü kontrolü için, hazırlanan test bileşiklerini çözmek için organik çözücü içeren küçük bir Aromataz Tahlil Tamponu bölümü kullanıldı. Test bileşiklerini ve karşılık gelen inhibitörsüz kontrolleri (çözücü kontrolü olarak da hizmet edebilir) içeren reaksiyon kuyuları ve ayrıca bir arka plan kontrolleri (florojenik Aromataz Substratı içermeyen) hazırlandı. Plaka, test ligandlarının aromataz ile etkileşime girmesine izin vermek için 37°C 'de en az 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, her bir kuyucuğa 30 μl Aromataz Substrat/NADP⁺ karışımı ilave edildi. Hemen (1 dakika içinde) Ex/Em = 488/527 nm'de floresan ölçüldü.

4.8. Moleküler Doking

Moleküler doking çalışmasının tüm aşamaları Schrödinger Maestro 2021.2 versiyon ile gerçekleştirilmiştir. Hedef sitokrom P450 19A1 aromataz enzimi için 2.90Å çözünürlüğe sahip PDB ID: 3EQM seçilmiştir (www.rcsb.org/structure/3EQM) [47]. Protein hazırlanması 'Protein Preparation Wizard' modülü ile yapılmıştır. Protein yapısındaki kofaktör HEM (Demir içeren protoporfirin IX) haricindeki su ve diğer heteroatomlar kaldırılmış ve hidrojenler eklenmiştir. Hidrojen bağlarının ayarlanması PROPKA:7.0'da su molekülü oryantasyonları kullanılarak optimize edildi. OPLS4 (S1V1 Simülasyonları için Optimize Edilmiş Potansiyel) alan kuvvetleri aromataz enzimi minimize edilmiştir. Bileşikler ise, ChemDraw Professional 17.0 ile çizilmiş pH:7.2 de 'LigPrep' modülü ile OPLS4 olan kuvvetleri kullanılarak minimize edilmiştir. Kokristal ligand ASD (4-androstan-3-17-dion) baz alınarak aktif site koordinatları belirlenmiş ve 20*20*20 Å³ olarak grid dosyası 'Receptor Grid Generation' modülü ile oluşturulmuştur. Glide Standard Precision (SP) ile ligand doking çalışmaları gerçekleştirmiştir [48].

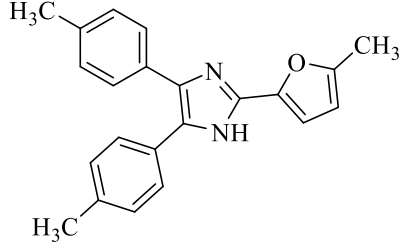
Protein-ligand etkileşimlerin analizi ve görselleştirilmesi Maestro ‘Ligand Interaction’ modülü ve BIOVIA Discovery Studio Visualizer v21 ile gerçekleştirilmiştir.



5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1H-imidazol (1a)

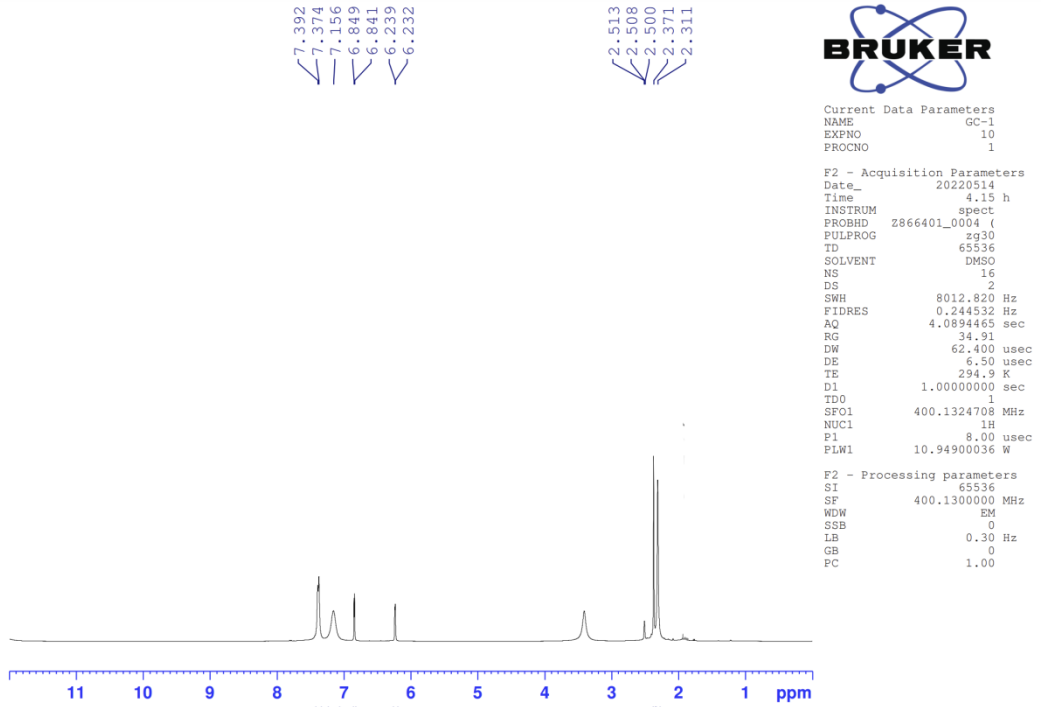


Deneysel E.n. 276.6 °C. Verim % 77.

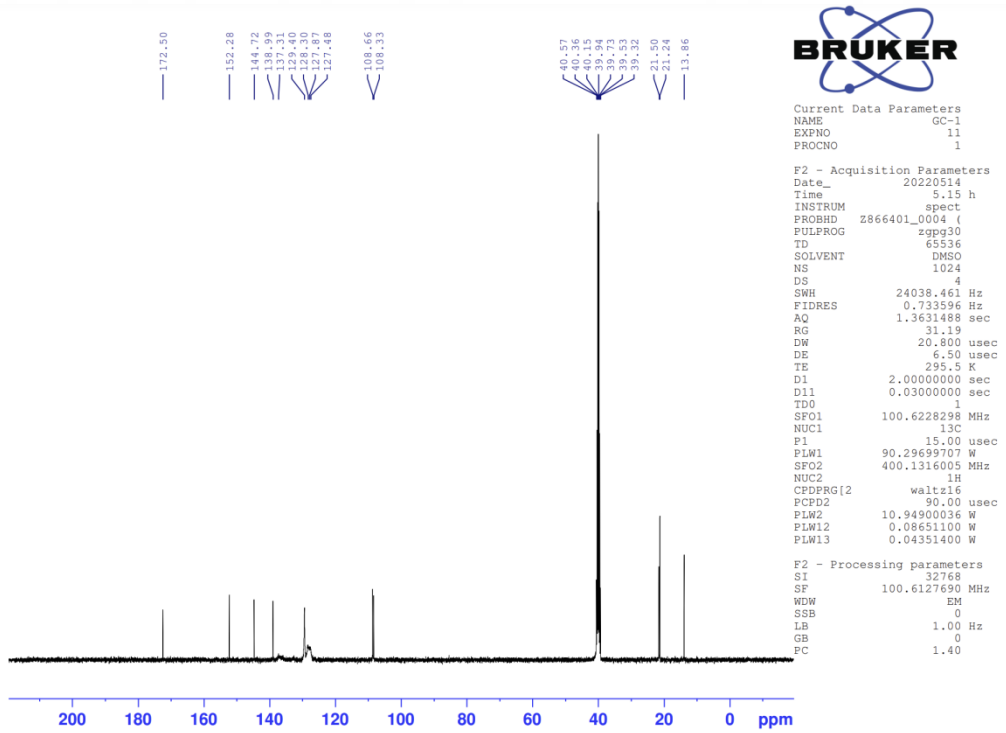
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.31 (6H, s, -CH₃), 2.37 (3H, s, -CH₃), 6.23-6.24 (1H, m, furan CH), 6.84-6.85 (1H, m, furan CH), 7.16 (4H, br.s., 1,4-disübstitüebenzen), 7.37-7.39 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 13.86, 21.24, 21.50, 108.33, 108.66, 127.48, 127.87, 128.30, 129.40, 137.31, 138.99, 144.72, 152.28, 172.50.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₂H₂₀N₂O Hesaplanan: 329.1648; Bulunan: 329.1638.



Şekil 5.1. 1a Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.2. 1a Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\GC-1_22.lcd

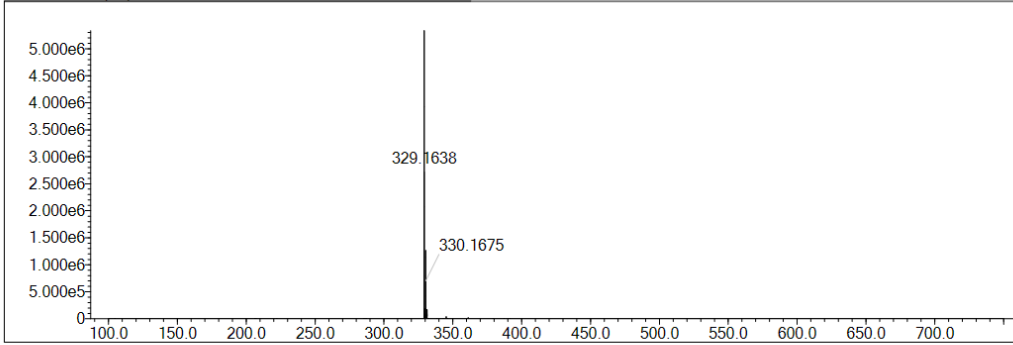
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	18	30	F	1	0	0	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	0	2	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	1	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 4
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

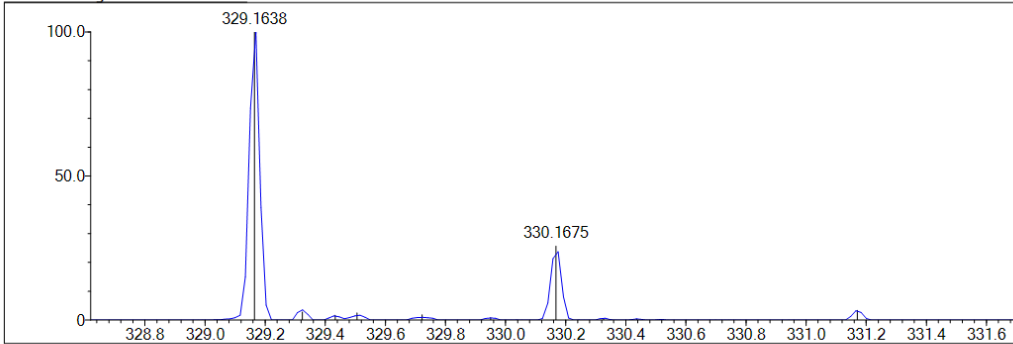
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

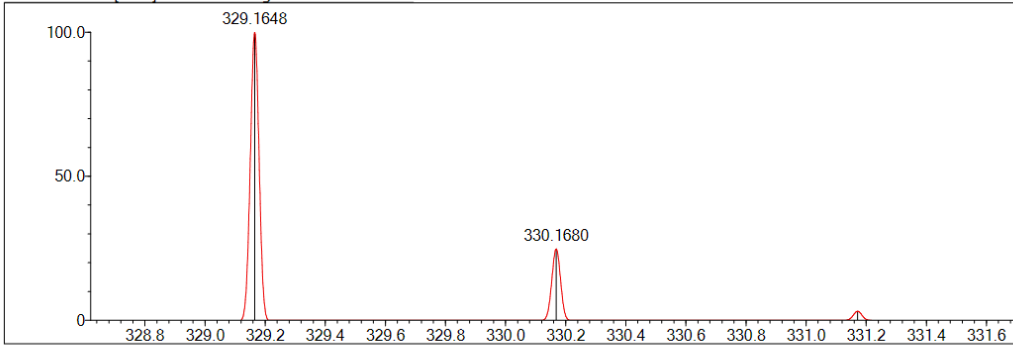
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.733 -> 3.880 Scan# : 411 -> 583



Measured region for 329.1638 m/z



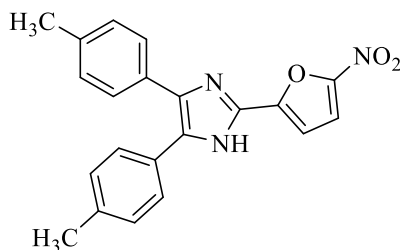
C22 H20 N2 O [M+H]⁺ : Predicted region for 329.1648 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.04	C22 H20 N2 O	[M+H] ⁺	329.1638	329.1648	-1.0	-3.04	91.71	14.0

Şekil 5.3. 1a Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.2. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-nitrofuran-2-il)-1H-imidazol (1b)

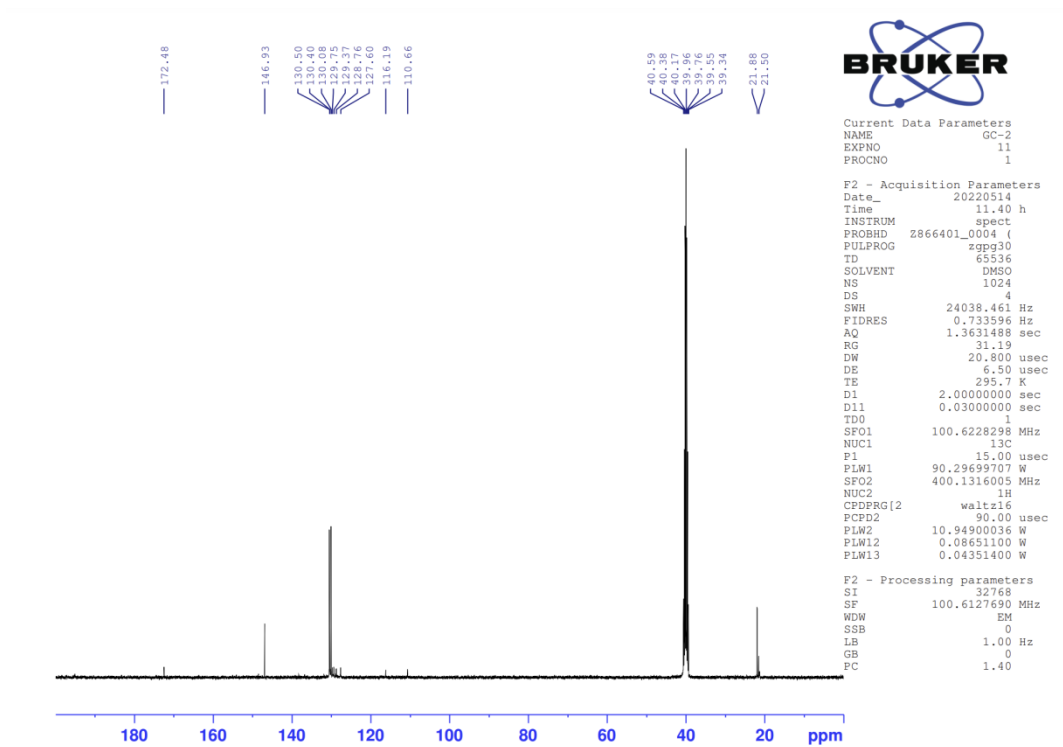
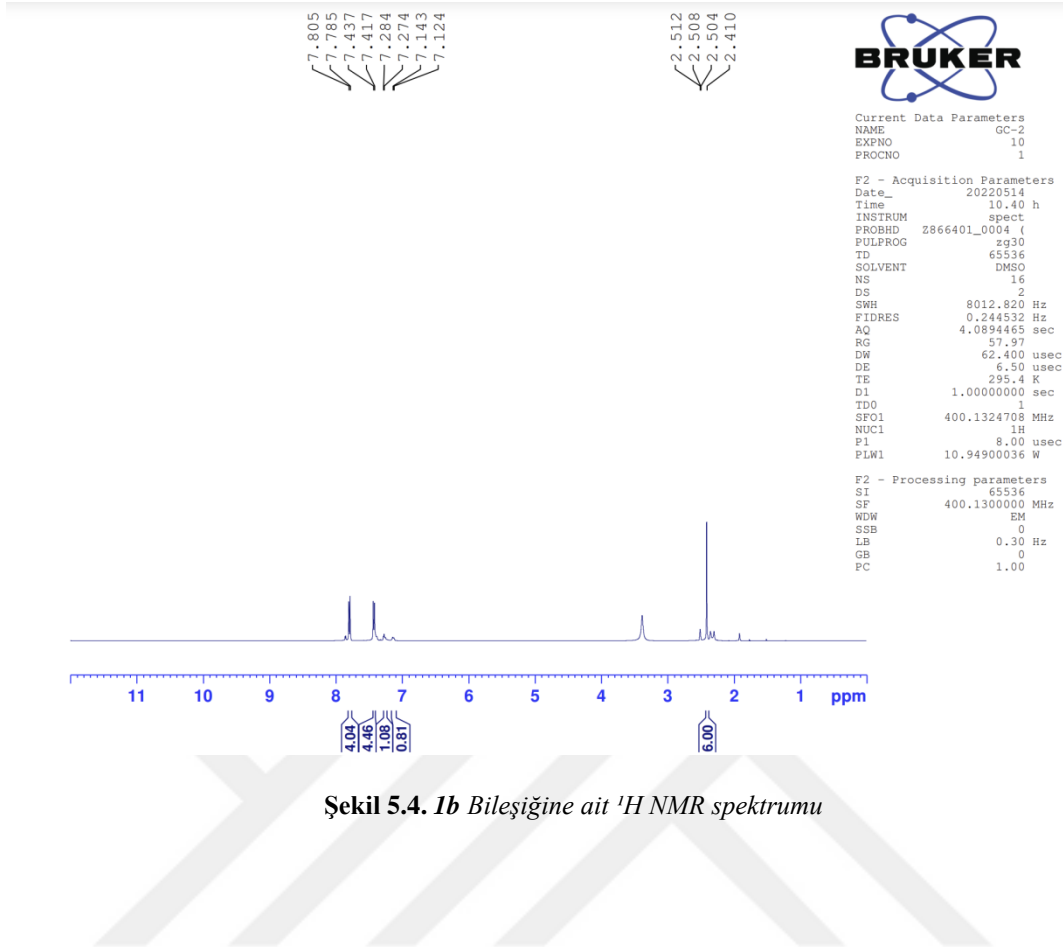


Deneysel E.n. 181.4 °C. Verim % 75.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.41 (6H, s, CH₃), 7.12-7.15 (1H, m, furan CH), 7.27-7.28 (1H, m, furan CH), 7.42 (4H, d, J=6.06 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.78-7.80 (4H, d, J=6.12 Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 21.50, 21.88, 110.66, 116.19, 127.60, 128.76, 129.37, 129.75, 130.08, 130.40, 130.50, 146.93, 172.48.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₁H₁₇N₃O₃ Hesaplanan: 360.1343; Bulunan: 360.1339.



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\GC-2_23.lcd

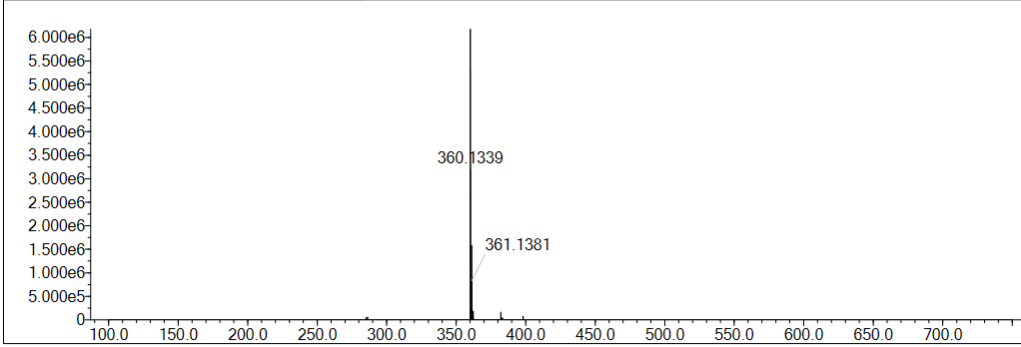
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	30	F	1	0	0	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	3	3	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	3	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

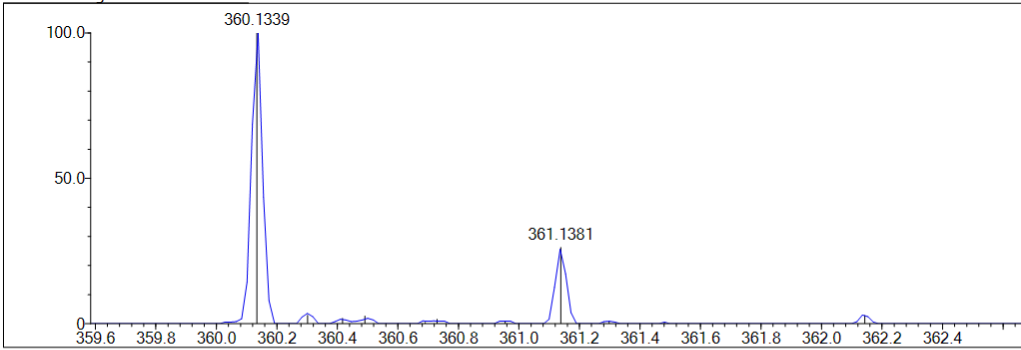
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

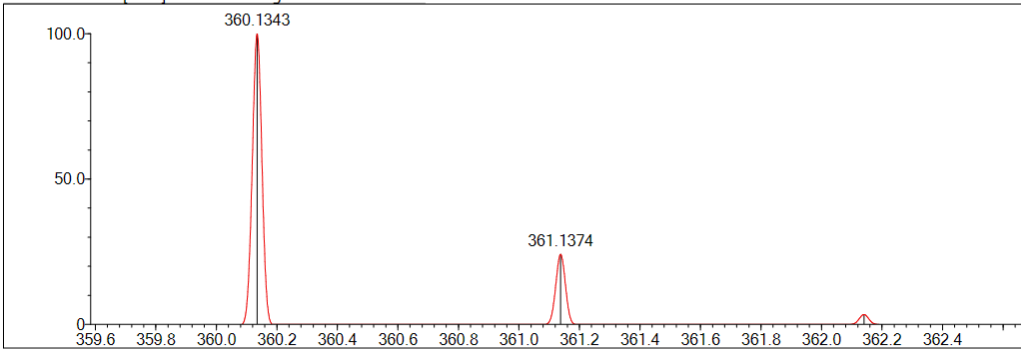
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.587 Scan# : 839



Measured region for 360.1339 m/z



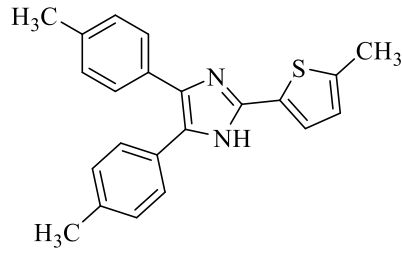
C21 H17 N3 O3 [M+H]⁺ : Predicted region for 360.1343 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	92.47	C21 H17 N3 O3	[M+H] ⁺	360.1339	360.1343	-0.4	-1.11	92.72	15.0

Şekil 5.6. 1b Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.3. 4,5-Bis(4-metilfenil)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1H-imidazol (1c)

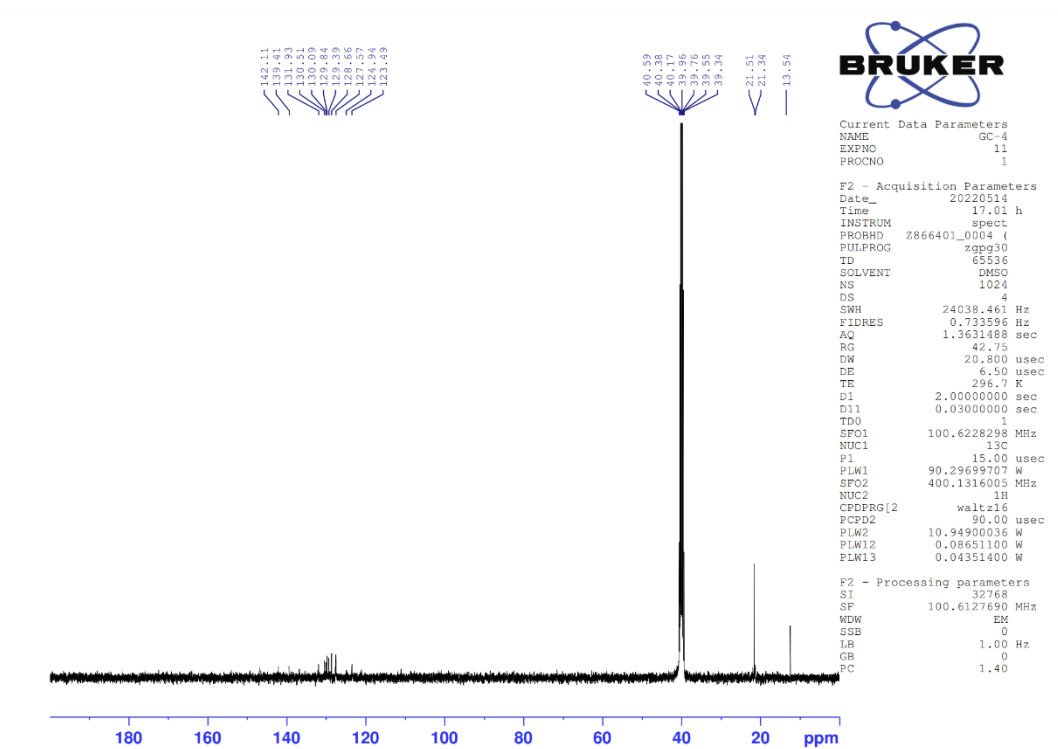
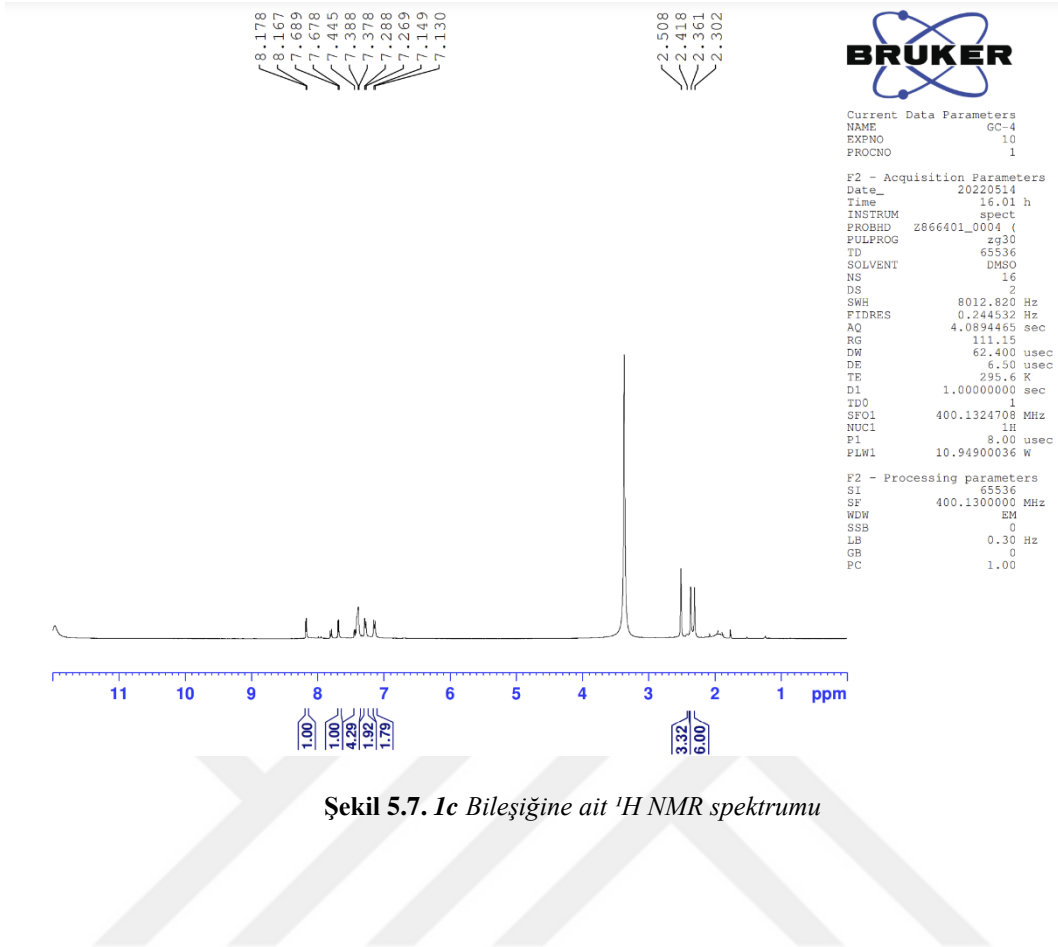


Deneysel E.n. 107.5 °C. Verim % 77.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.30 (6H, s, -CH₃), 2.36 (3H, s, -CH₃), 7.13 (2H, d, J=5.76 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.27 (2H, d, J=5.79 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.38-7.45 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen), 7.67-7.68 (1H, m, tiyofen CH), 8.17-8.18 (1H, m, tiyofen CH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 13.54, 21.34, 21.51, 123.49, 124.94, 127.57, 128.66, 129.39, 129.84, 130.09, 130.51, 131.93, 139.41, 142.11.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₂H₂₀N₂S Hesaplanan: 345.1420; Bulunan: 345.1418.

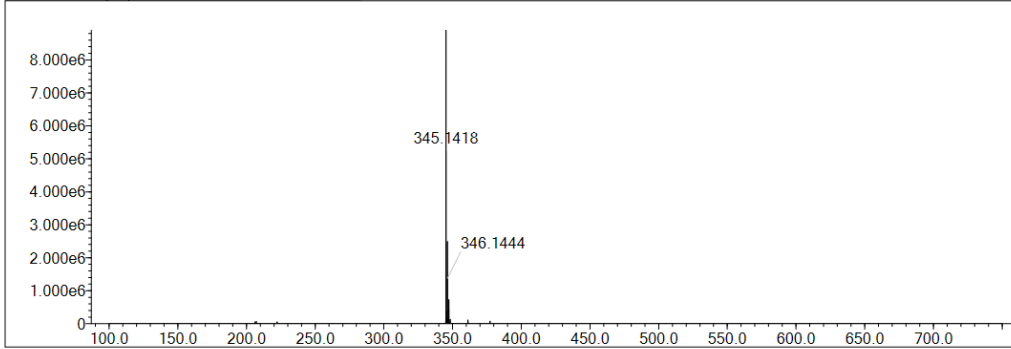


Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\aac\A-22_174.lcd

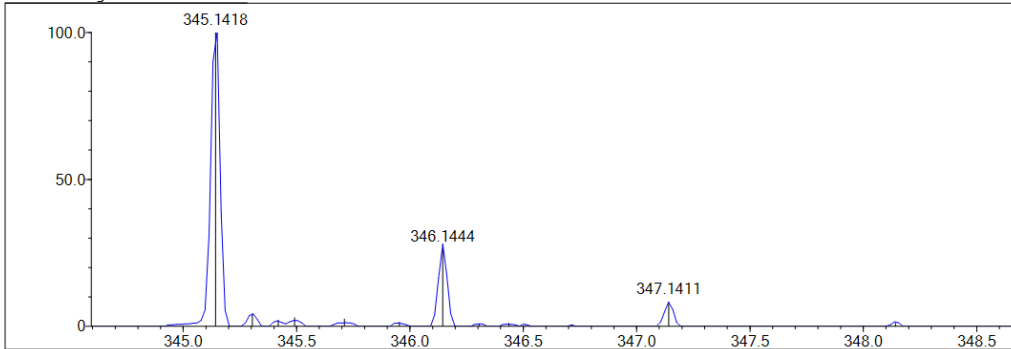
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	22	O	2	0	0	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	7	37	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	NH4
N	3	2	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 DBE Range: 5.0 - 20.0
 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited
 Apply N Rule: yes
 Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Iso RI (%): 10.00
 MSn Logic Mode: AND
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

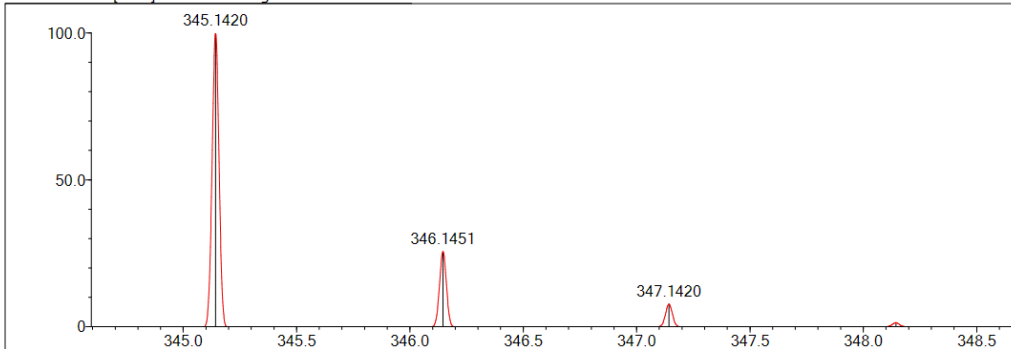
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.480 Scan# : 523



Measured region for 345.1418 m/z



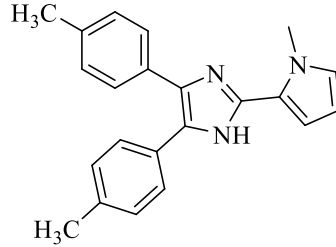
C22 H20 N2 S [M+H]+ : Predicted region for 345.1420 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	99.90	C22 H20 N2 S	[M+H] ⁺	345.1418	345.1420	-0.2	-0.58	99.90	14.0

Şekil 5.9. 1c Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.4. 4,5-Bis(4-metoksifenil)-2-(1-metil-1H-pirol-2-il)-1H-imidazol (1d)

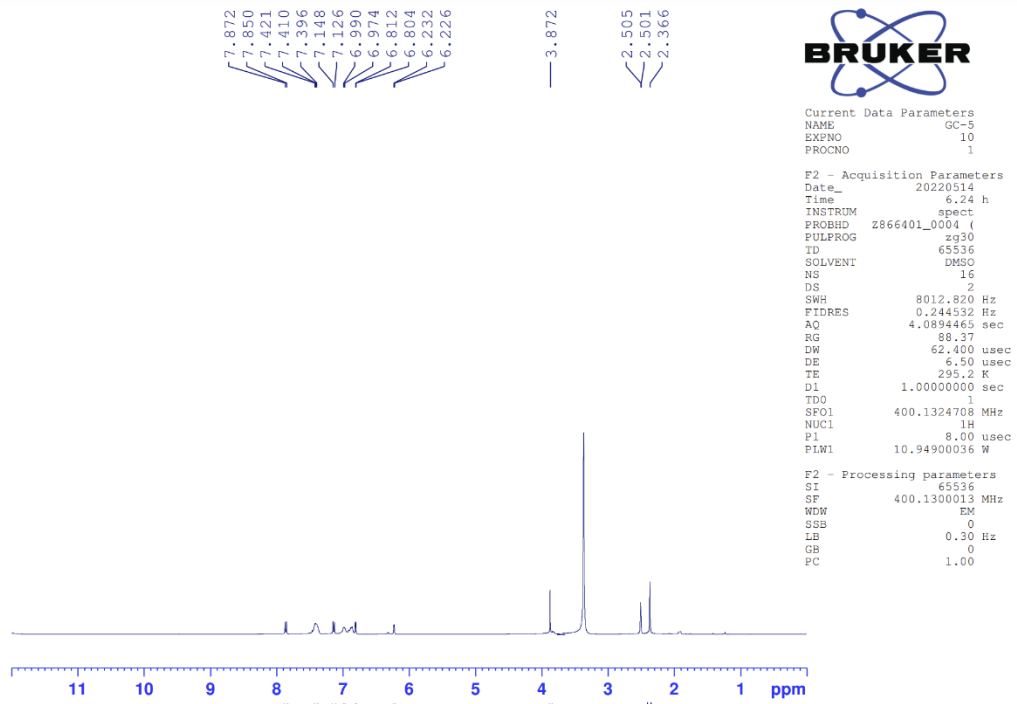


Deneyisel E.n. 118.3 °C. Verim % 79.

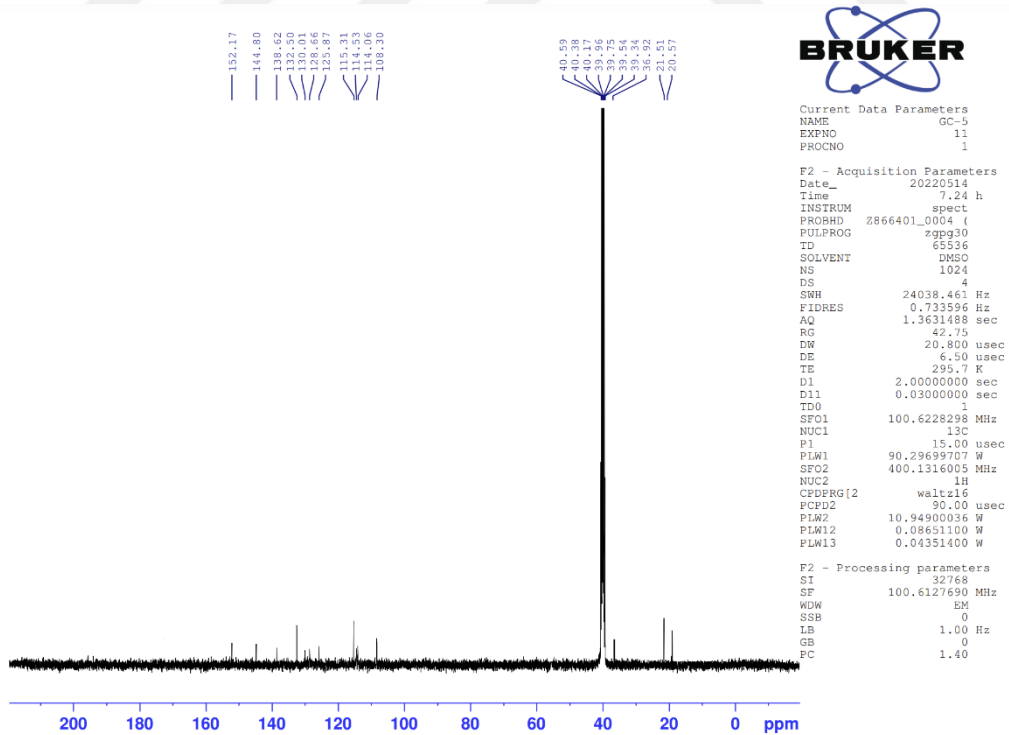
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.37 (6H, s, CH₃), 3.87 (3H, s, CH₃), 6.22-6.23 (1H, m, pirol CH), 6.80-6.81 (1H, m, pirol CH), 6.97-6.99 (1H, m, pirol CH), 7.13 (2H, d, J=6.63 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.40-7.42 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen), 7.86 (2H, d, J=6.63 Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 20.57, 21.51, 36.92, 108.30, 114.06, 114.53, 115.31, 125.87, 128.66, 130.01, 132.50, 138.61, 144.80, 152.17.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₂H₂₁N₃ Hesaplanan: 328.1808; Bulunan: 328.1801.



Şekil 5.10. 1d Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.11. 1d Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\aac\A-20_172.lcd

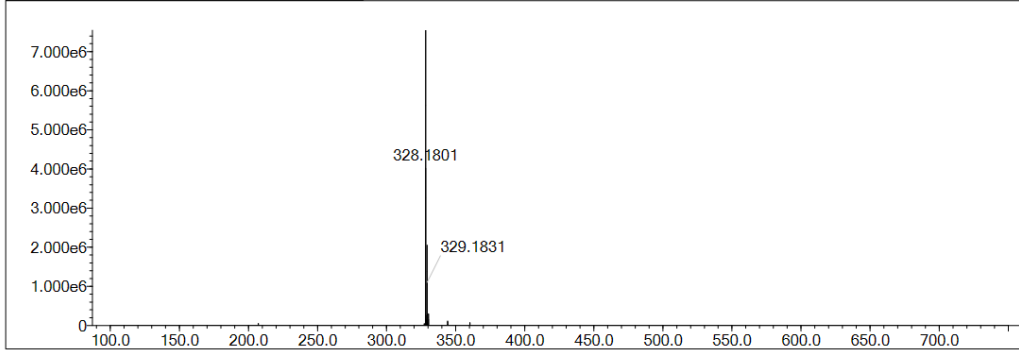
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	22	O	2	0	0	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	7	37	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	NH4
N	3	3	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

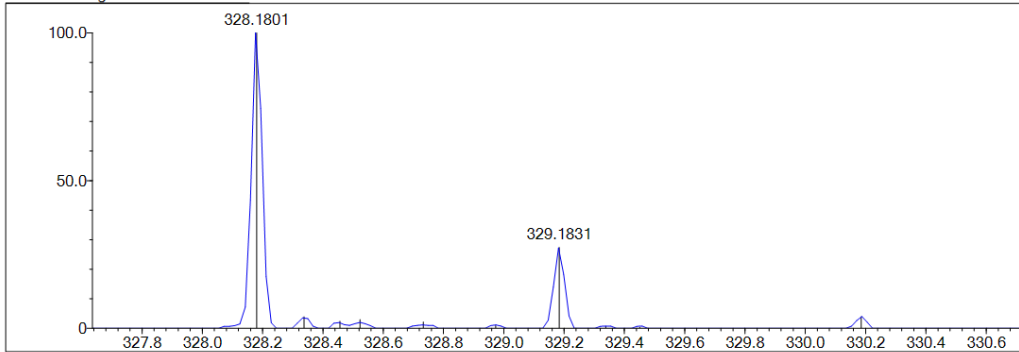
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

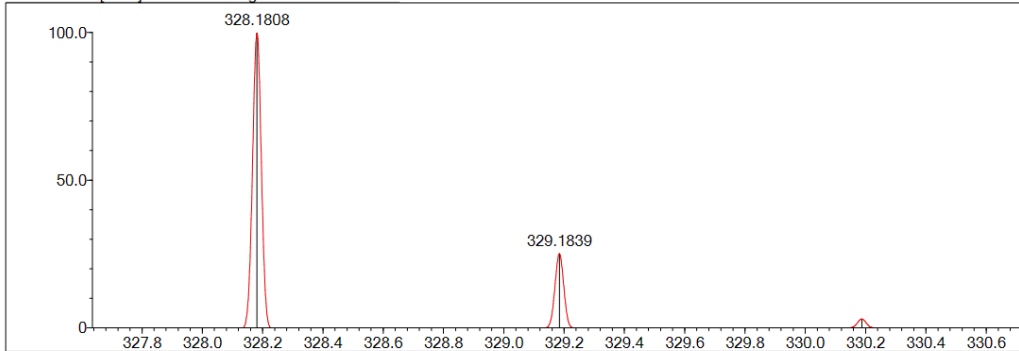
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.973 Scan# : 447



Measured region for 328.1801 m/z



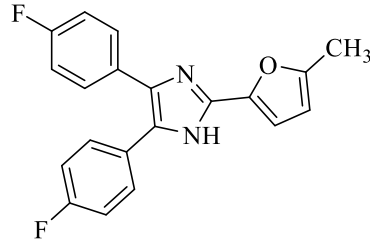
C22 H21 N3 [M+H]⁺ : Predicted region for 328.1808 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	84.41	C22 H21 N3	[M+H] ⁺	328.1801	328.1808	-0.7	-2.13	86.87	14.0

Şekil 5.12. 1d Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.5. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1H-imidazol (1e)

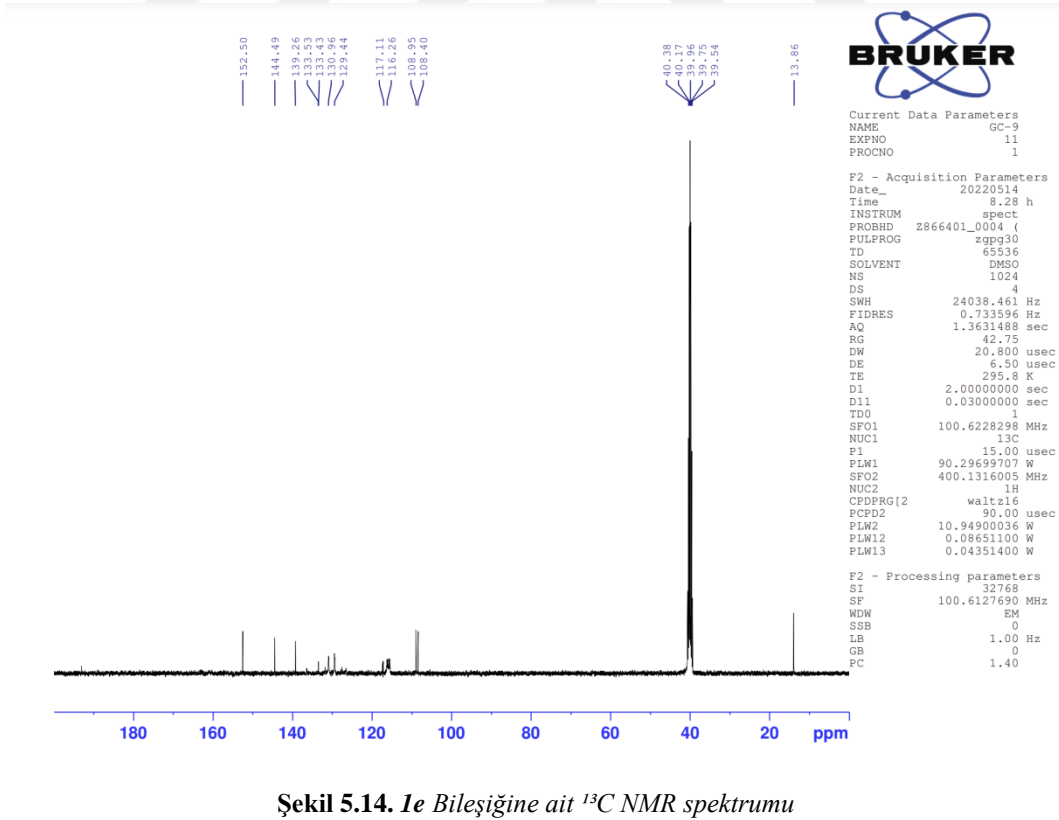
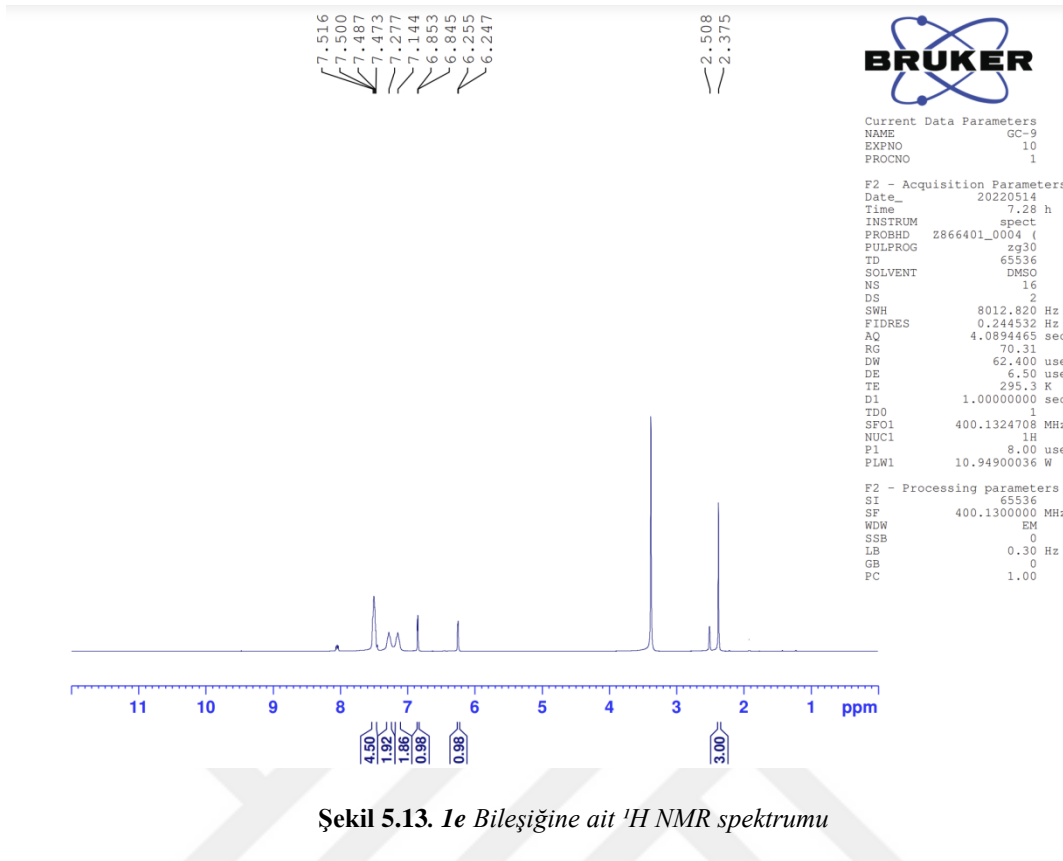


Deneysel E.n. 255.3 °C. Verim % 75.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.38 (3H, s, CH₃), 6.25-6.26 (1H, m, furan CH), 6.84-6.85 (1H, m, furan CH), 7.14 (2H, br.s., 1,4-disübstitüebenzen), 7.28 (2H, br.s., 1,4-disübstitüebenzen), 7.47-7.52 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 13.86, 108.40, 108.95, 116.26, 117.11, 129.44, 130.96, 133.43, 133.53, 139.26, 144.49, 152.50.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₀H₁₄N₂O₂F₂ Hesaplanan: 337.1147; Bulunan: 337.1138.



Data File: C:\LabSolutions\Data\Analizuac\GC-9_29.lcd

Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	15	F	1	2	2	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	2	2	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5

DBE Range: 5.0 - 25.0

Electron Ions: both

HC Ratio: unlimited

Apply N Rule: yes

Use MSn Info: yes

Max Isotopes: 3

Isotope RI (%): 1.00

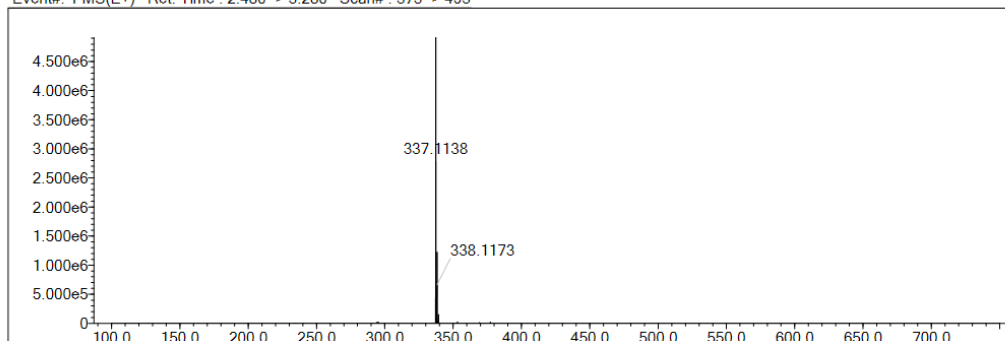
Isotope Res: 9000

MSn Iso RI (%): 10.00

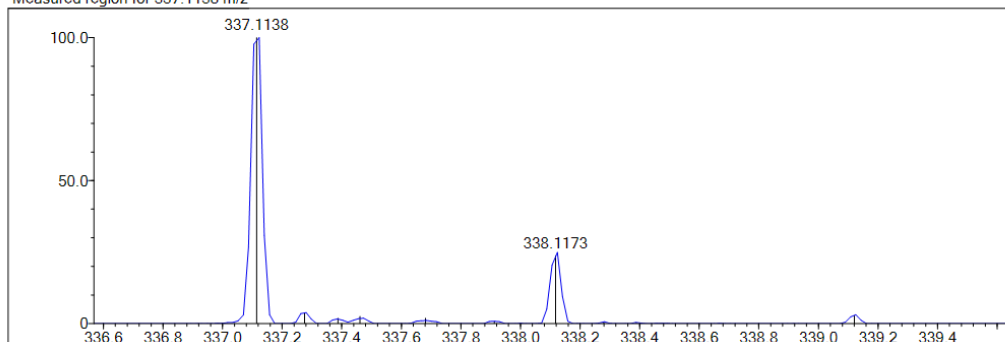
MSn Logic Mode: AND

Max Results: 50

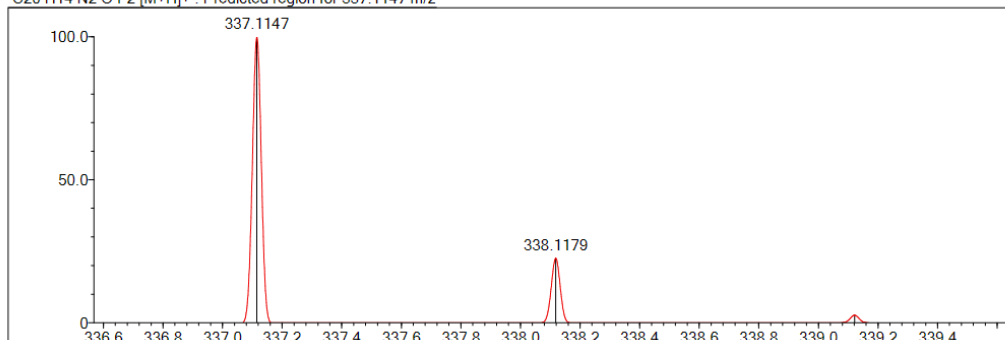
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.480 -> 3.280 Scan# : 373 -> 493



Measured region for 337.1138 m/z



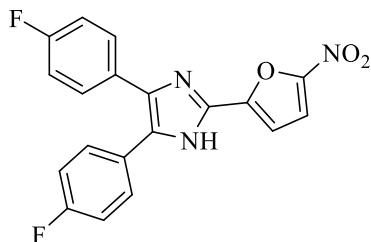
C20 H14 N2 O F2 [M+H]+ : Predicted region for 337.1147 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	95.83	C20 H14 N2 O F2	[M+H]+	337.1138	337.1147	-0.9	-2.67	100.00	14.0

Şekil 5.15. 1e Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.6. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metilfuran-2-il)-1H-imidazol (1f)

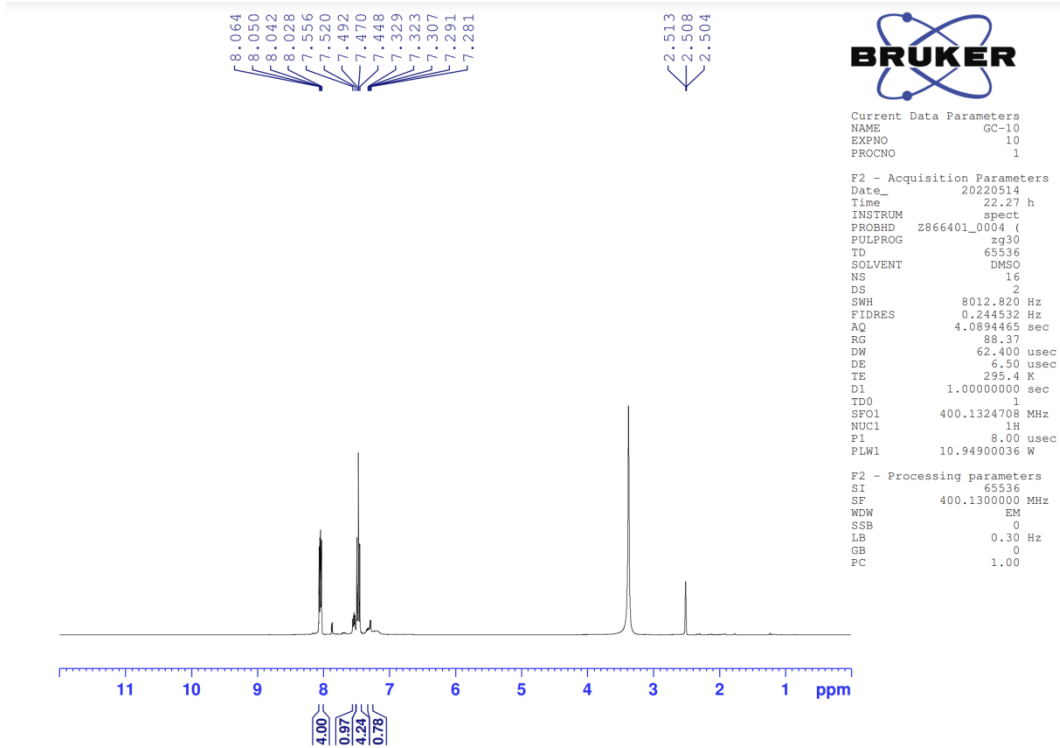


Deneysel E.n. 147.9 °C. Verim % 72.

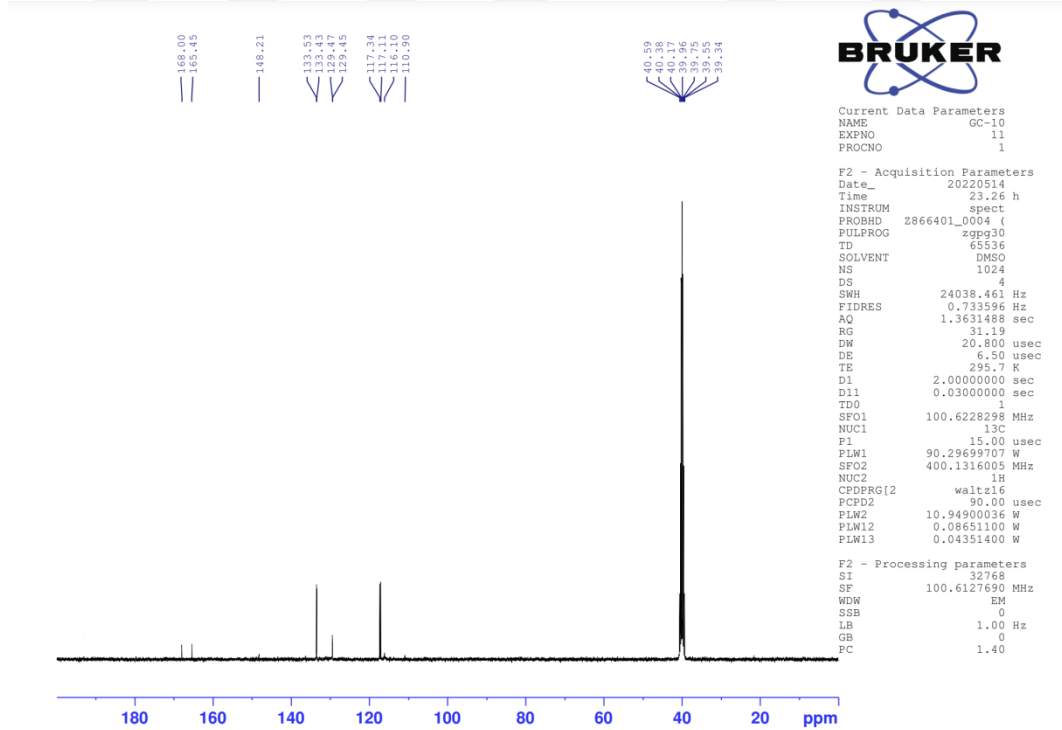
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 7.28 (1H, m, furan CH), 7.45-7.49 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen), 7.52-7.56 (1H, m, furan CH), 8.02-8.06 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 110.90, 116.10, 117.11, 117.34, 129.45, 129.47, 133.43, 133.53, 148.21, 165.45, 167.99.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₉H₁₁N₃O₃F₂ Hesaplanan: 368.0841; Bulunan: 368.0835.



Şekil 5.16. 1f Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.17. 1f Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\aac\GC-10_30.lcd

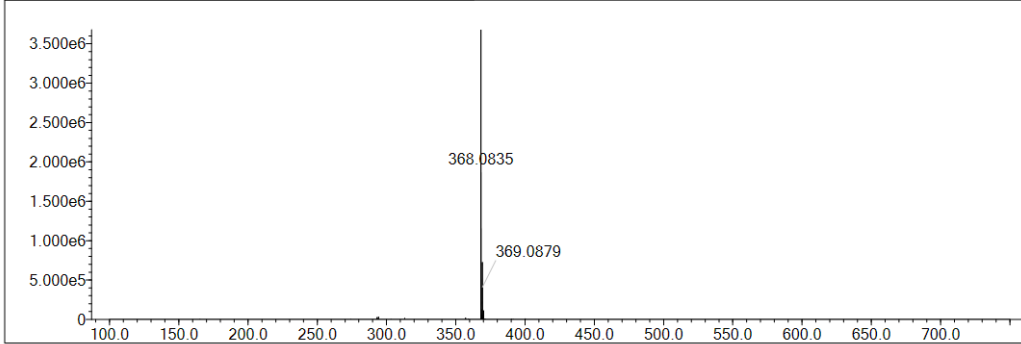
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	12	F	1	2	2	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	3	3	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

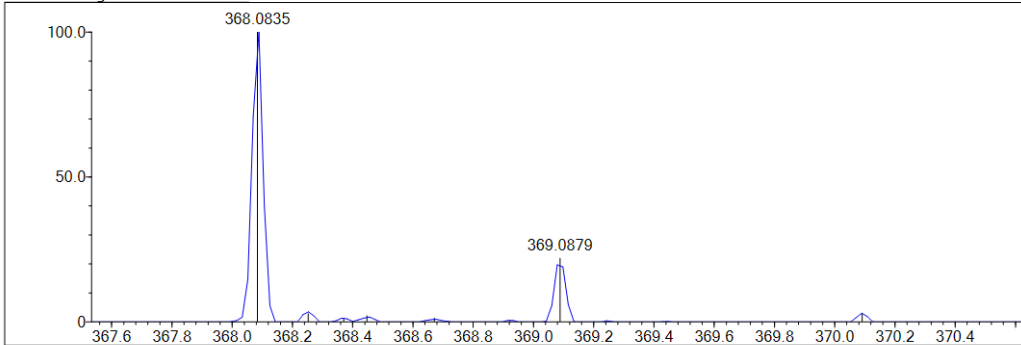
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

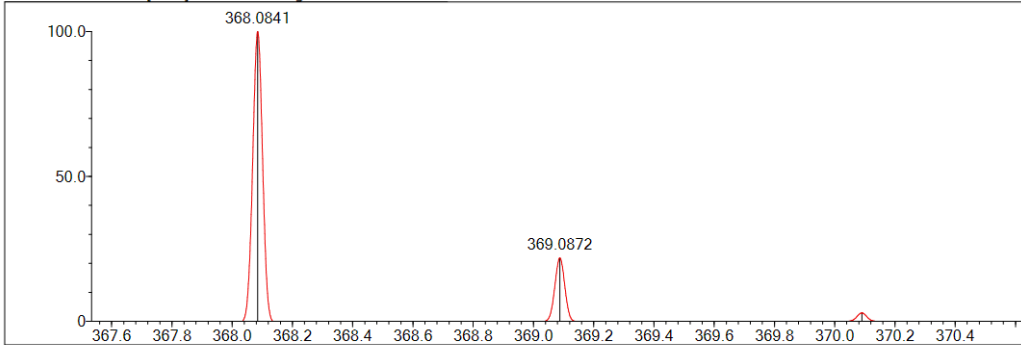
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.920 -> 4.387 Scan#: 589 -> 659



Measured region for 368.0835 m/z



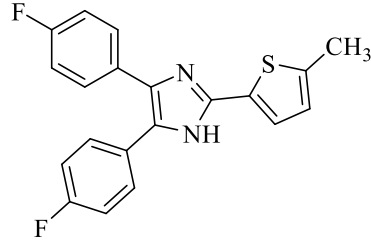
C19 H11 N3 O3 F2 [M+H]+ : Predicted region for 368.0841 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	87.37	C19 H11 N3 O3 F2	[M+H] ⁺	368.0835	368.0841	-0.6	-1.63	88.77	15.0

Şekil 5.18. 1f Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.7. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1H-imidazol (1g)

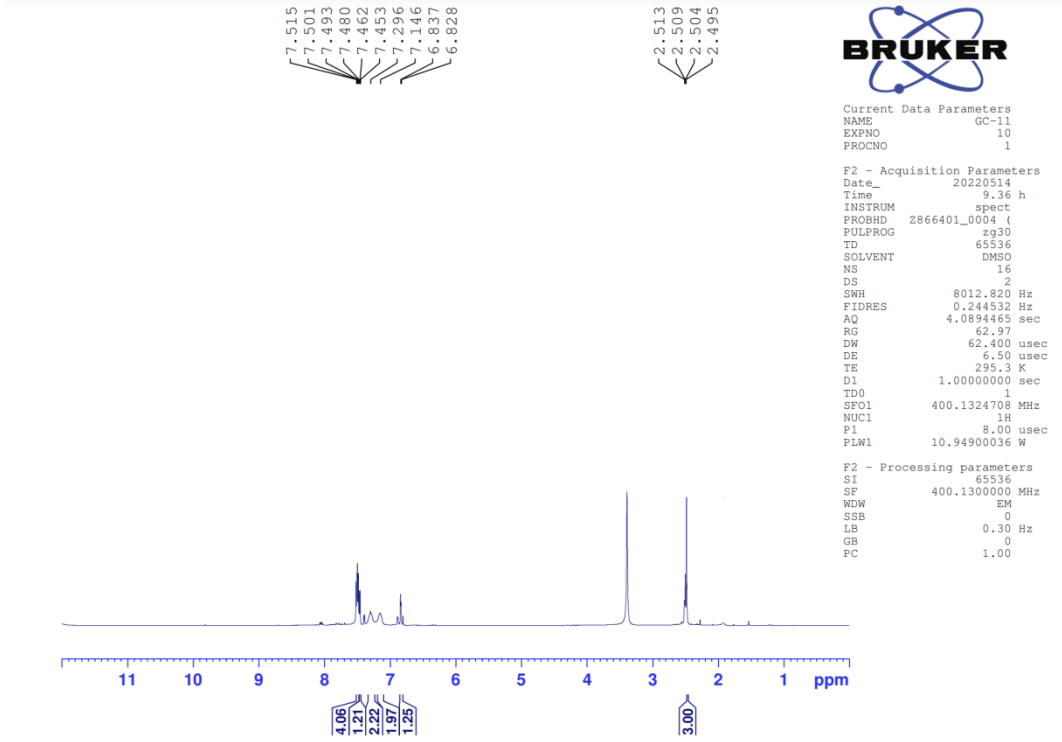


Deneysel E.n. 144.7 °C. Verim % 78.

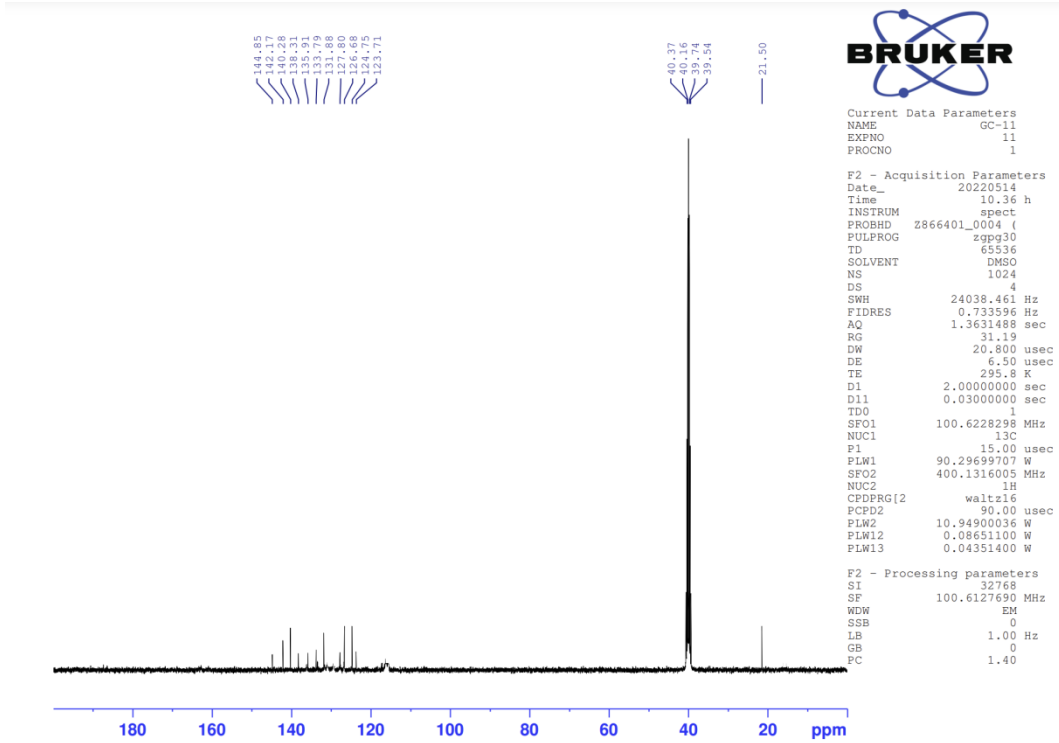
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 2.50 (3H, s, CH₃), 7.83-7.84 (1H, m, tiyofenCH), 7.15 (2H, br.s., 1,4-disübstitüebenzen), 7.30 (2H, br.s., 1,4-disübstitüebenzen), 7.45-7.46 (1H, m, tiyofen CH), 7.48-7.52 (4H, m, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 21.50, 123.71, 124.75, 126.68, 127.80, 131.88, 133.79, 135.91, 138.31, 140.28, 142.17, 144.85.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₀H₁₄N₂F₂S Hesaplanan: 353.0919; Bulunan: 353.0903.



Şekil 5.19. 1g Bileşiğine ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 5.20. 1g Bileşiğine ait ¹³C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\GC-11_31.lcd

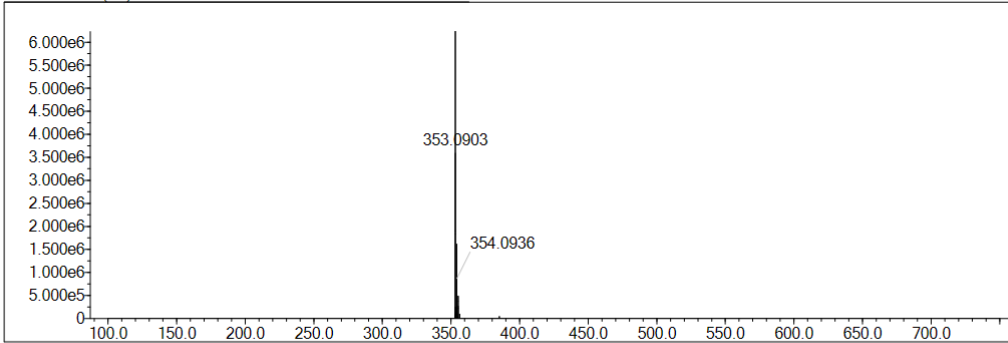
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	14	F	1	2	2	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	2	2	S	2	1	1	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

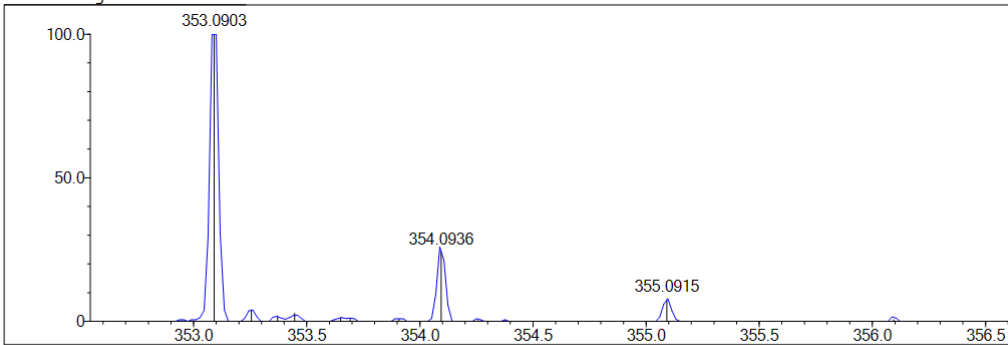
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

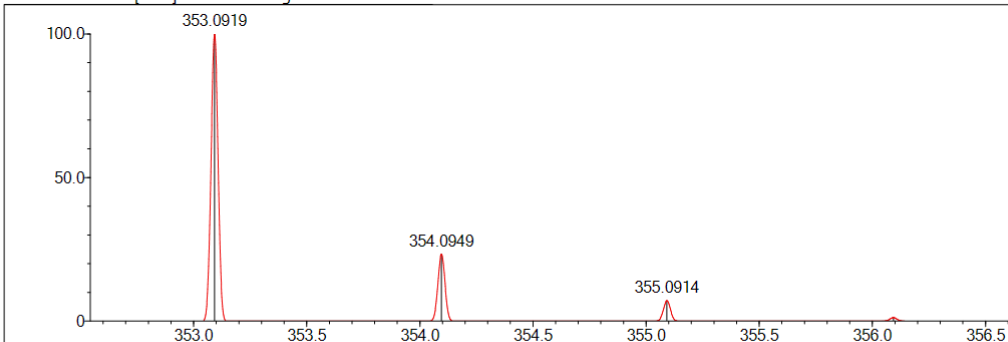
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 3.067 -> 3.067 Scan#: 461 -> 461



Measured region for 353.0903 m/z



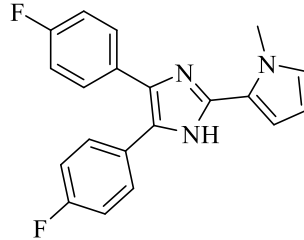
C20 H14 N2 F2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 353.0919 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	91.17	C20 H14 N2 F2 S	[M+H] ⁺	353.0903	353.0919	-1.6	-4.53	100.00	14.0

Şekil 5.21. 1g Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.8. 4,5-Bis(4-florofenil)-2-(1-metil-1H-pirol-2-il)-1H-imidazol (1h)

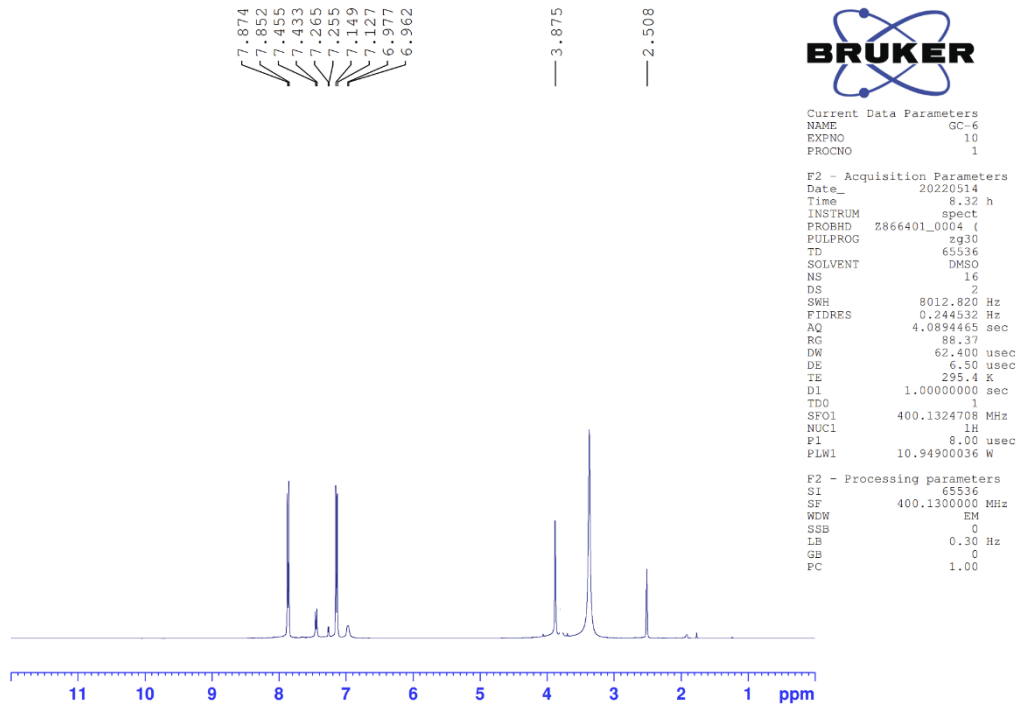


Deneysel E.n. 201.6 °C. Verim % 69.

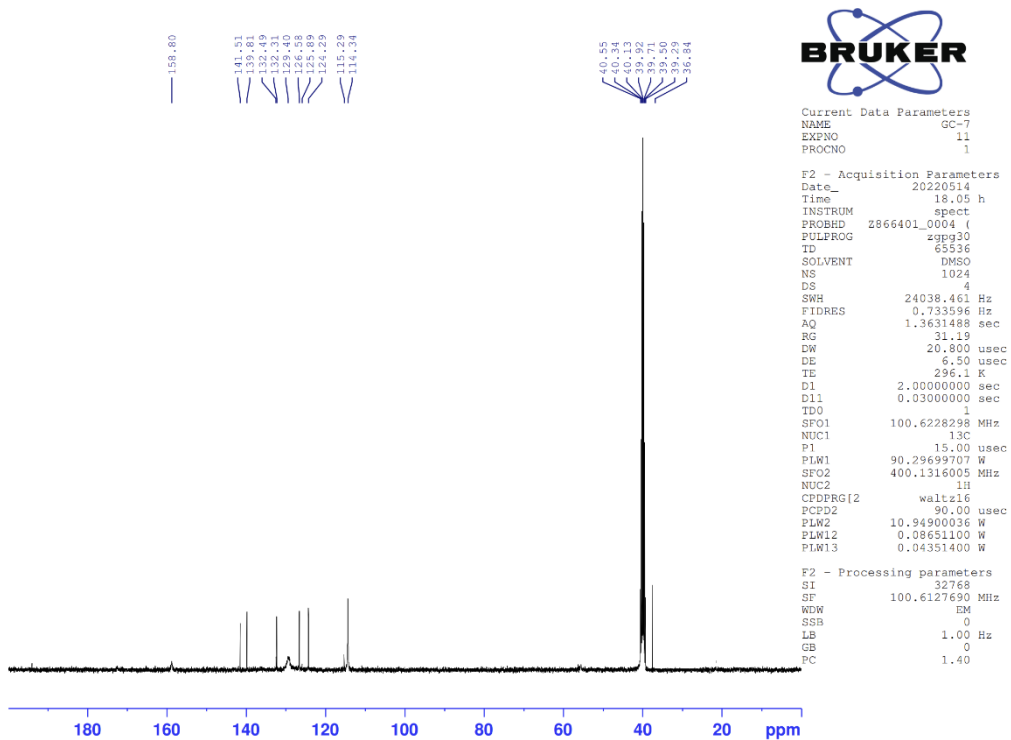
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 3.88 (3H, s, CH₃), 6.96-6.98 (1H, m, pirol CH), 7.13 (4H, d, J=6.60 Hz, 1,4-disübstitüebenzen), 7.25-7.26 (1H, m, pirol CH), 7.43-7.45 (1H, d, J=6.42 Hz, pirol CH), 7.86 (4H, d, J=6.57 Hz, 1,4-disübstitüebenzen).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 36.84, 114.34, 115.29, 124.29, 125.89, 126.58, 129.40, 132.31, 132.49, 139.81, 141.51, 158.80.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₂₀H₁₅N₃F₂ Hesaplanan: 336.1307; Bulunan: 336.1300.



Şekil 5.22. 1h Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.23. 1h Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\A-21_173.lcd

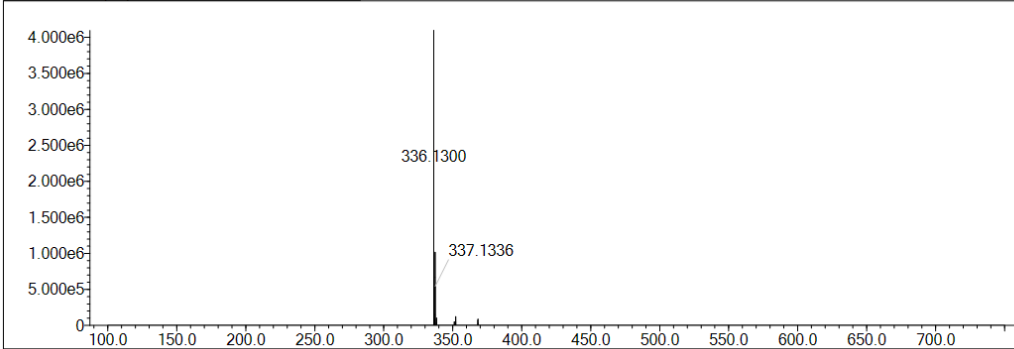
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	22	O	2	0	0	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	7	37	F	1	2	2	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	NH4
N	3	3	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

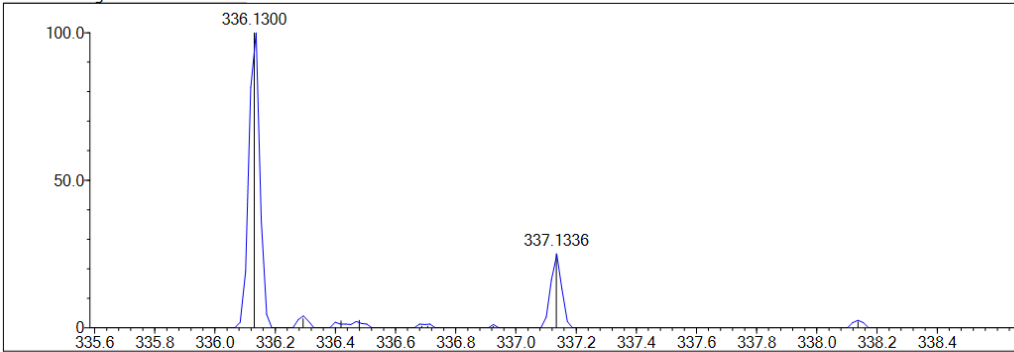
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

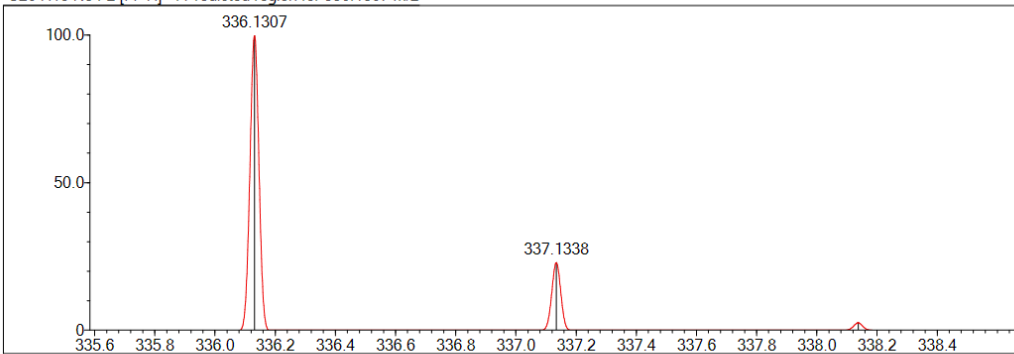
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.867 Scan# : 431



Measured region for 336.1300 m/z



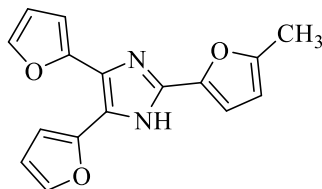
C20 H15 N3 F2 [M+H]⁺ : Predicted region for 336.1307 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	89.60	C20 H15 N3 F2	[M+H] ⁺	336.1300	336.1307	-0.7	-2.08	92.08	14.0

Şekil 5.24. 1h Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.9. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-metilfuran-2-il)-1H-imidazol (1i)

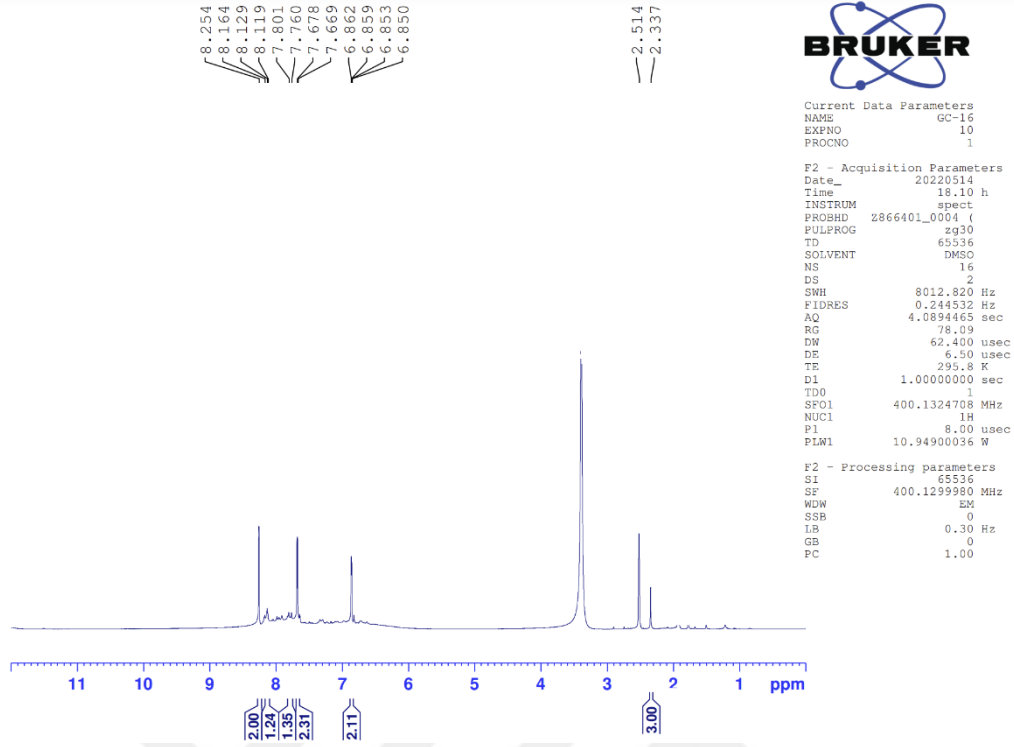


Deneyisel E.n. >350 °C. Verim % 78.

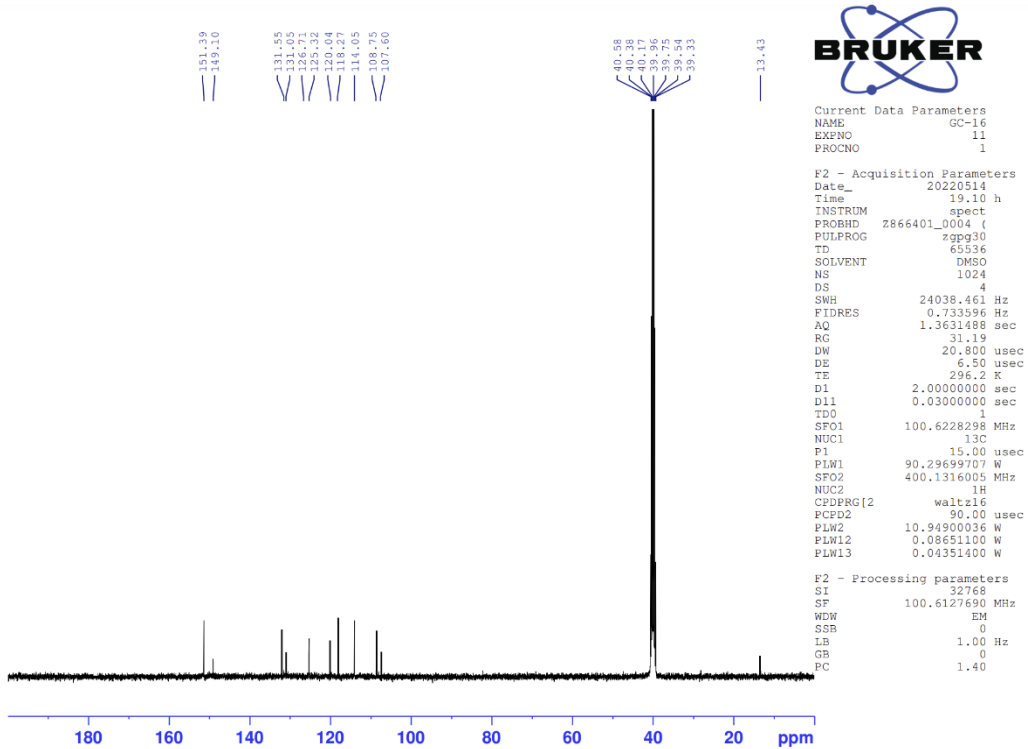
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.34 (3H, s, CH₃), 6.85-6.86 (2H, m, furan CH), 7.67-7.68 (2H, m, furan CH), 7.76-7.80 (1H, m, furan CH), 8.12-8.16 (1H, m, furan CH), 8.25 (2H, s, furan CH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 13.43, 107.60, 108.75, 114.05, 118.27, 120.04, 125.32, 126.71, 131.05, 131.55, 149.10, 151.39.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₆H₁₂N₂O₃ Hesaplanan: 281.0921; Bulunan: 281.0910.



Şekil 5.25. 1i Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



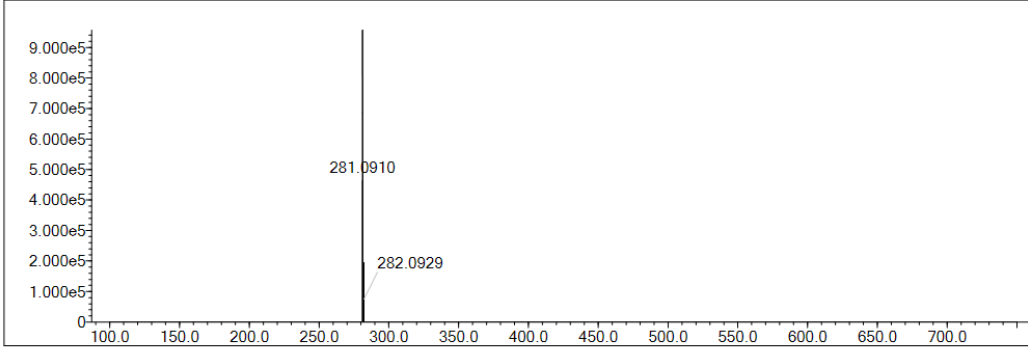
Şekil 5.26. 1i Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uacl\GC-13_33.lcd

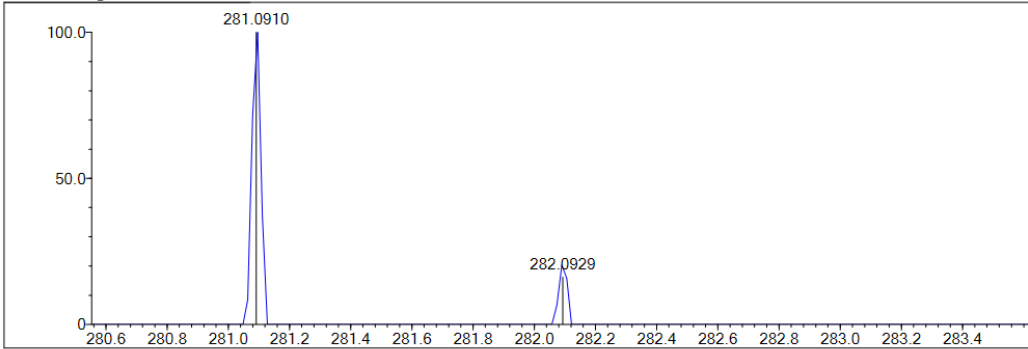
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	10	12	F	1	0	0	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	2	3	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 DBE Range: 5.0 - 25.0
 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited
 Apply N Rule: yes
 Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

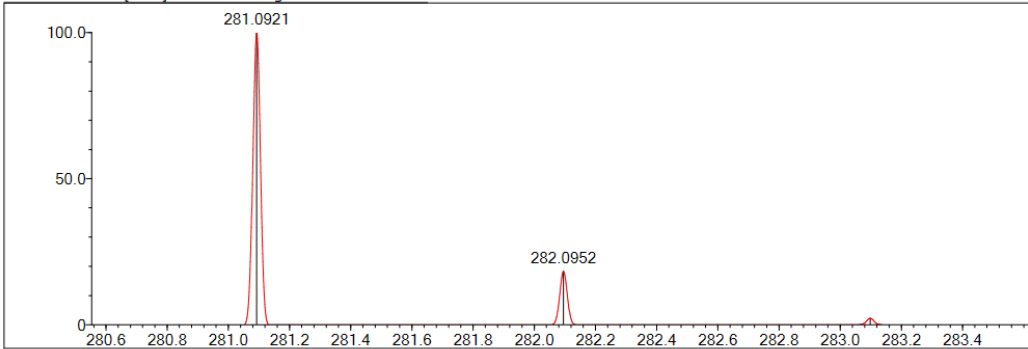
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.573 Scan# : 387



Measured region for 281.0910 m/z



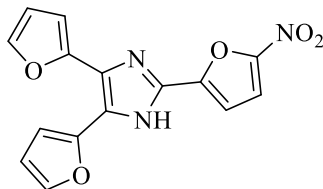
C16 H12 N2 O3 [M+H]+ : Predicted region for 281.0921 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	66.34	C16 H12 N2 O3	[M+H] ⁺	281.0910	281.0921	-1.1	-3.91	71.55	12.0

Şekil 5.27. *Ii* Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.10. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-nitrofuran-2-il)-1H-imidazol (1j)

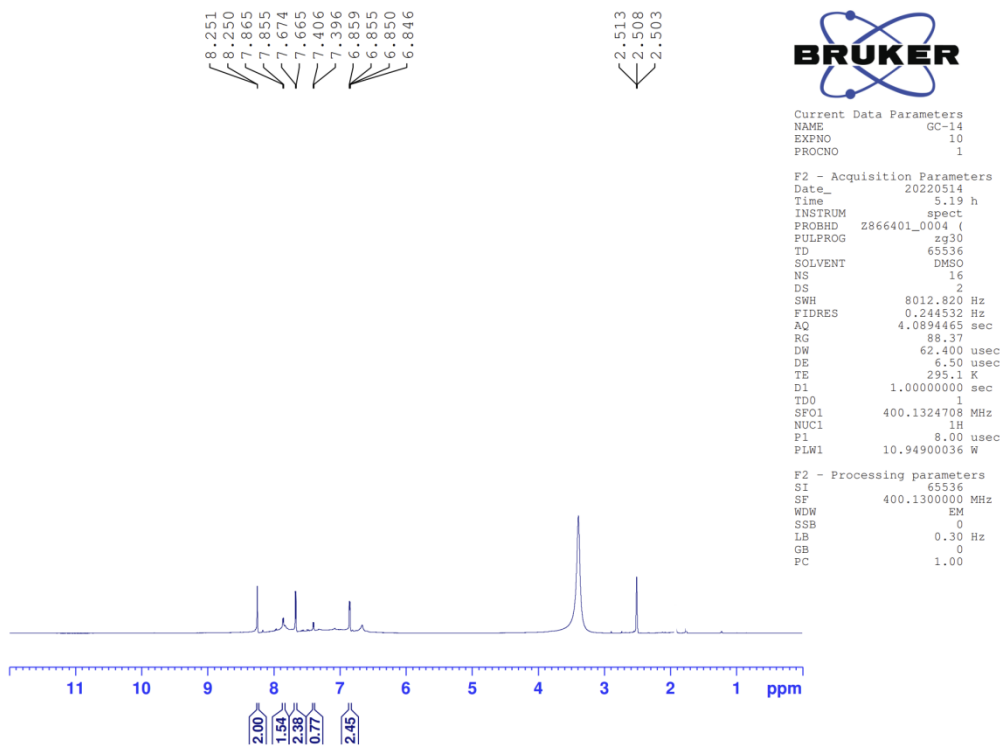


Deneysel E.n. >350 °C. Verim %71.

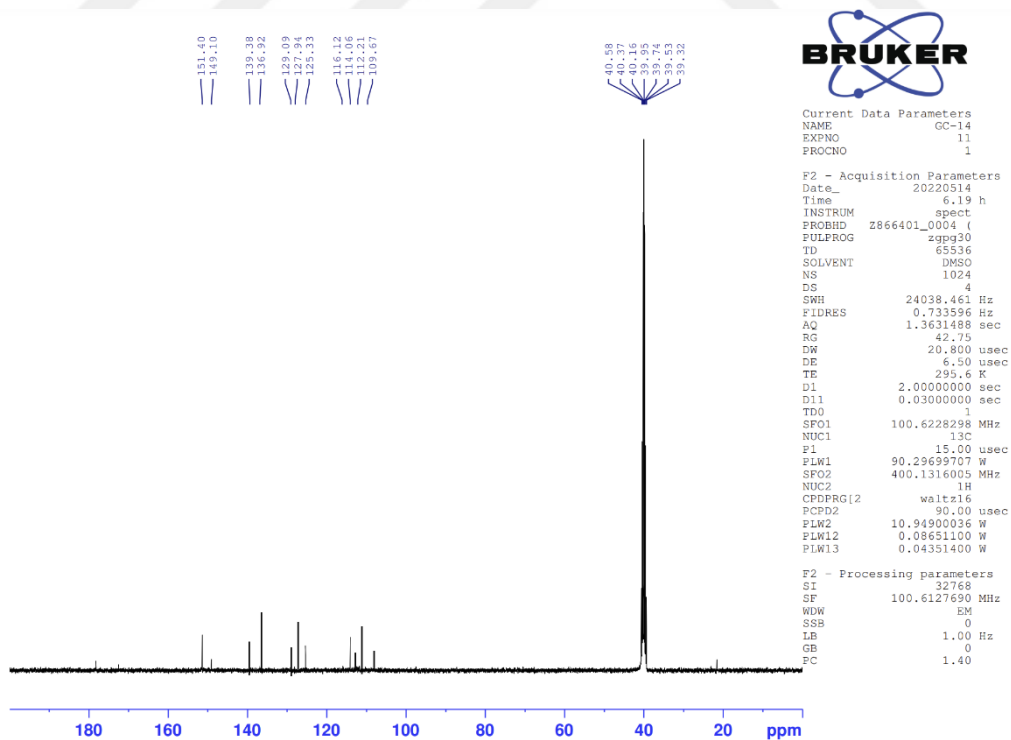
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 6.85-6.86 (2H, m, Furan CH), 7.40-7.41 (1H, m, Furan CH), 7.66-7.67 (2H, m, Furan CH), 7.85-7.86 (1H, m, Furan CH), 8.24-8.25 (2H, m, Furan CH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ: 109.67, 112.21, 114.06, 116.12, 125.33, 127.94, 129.09, 136.92, 139.38, 149.10, 151.40.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₅H₉N₃O₅ Hesaplanan: 312.0615; Bulunan: 312.0610.



Şekil 5.28. 1j Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.29. 1j Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\luac\GC-14_34.lcd

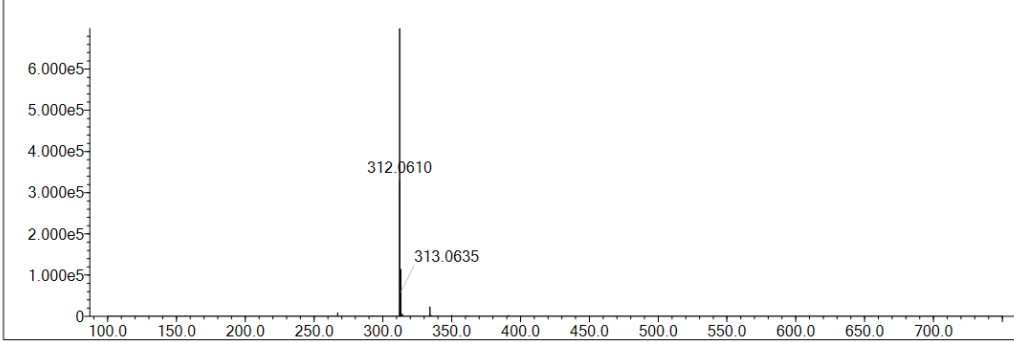
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	12	F	1	0	0	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	2	3	S	2	0	0	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

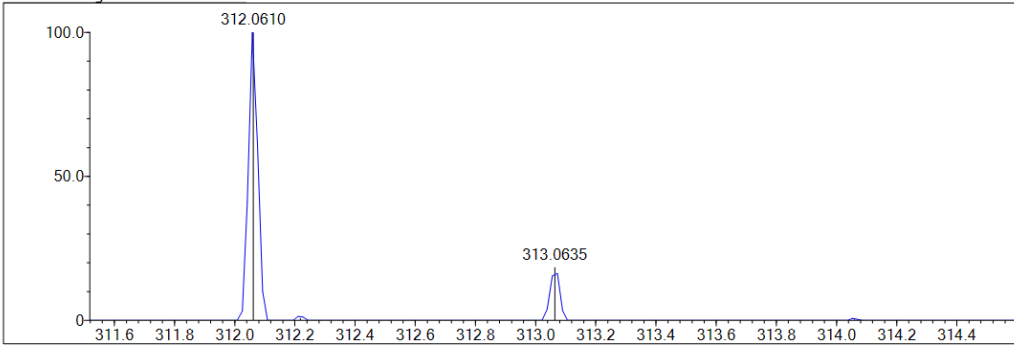
DBE Range: 5.0 - 25.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

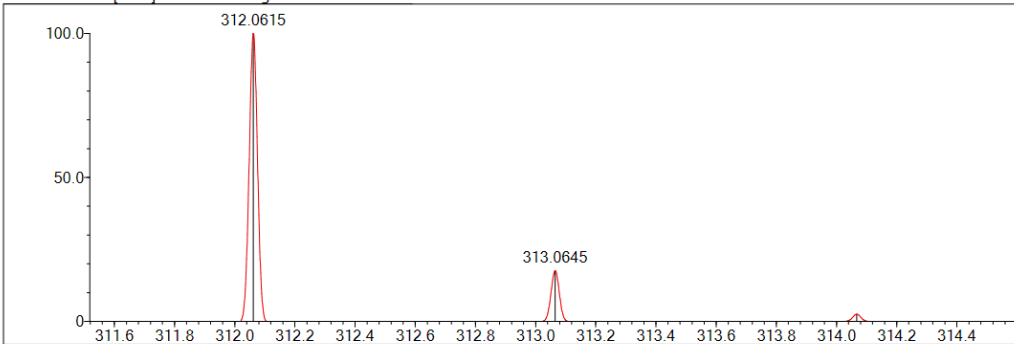
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.480 -> 2.933 Scan#: 373 -> 441



Measured region for 312.0610 m/z



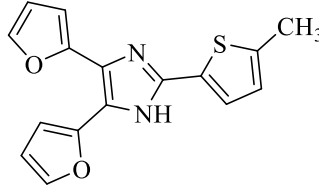
C15 H9 N3 O5 [M+H]⁺ : Predicted region for 312.0615 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	53.03	C15 H9 N3 O5	[M+H] ⁺	312.0610	312.0615	-0.5	-1.60	53.83	13.0

Şekil 5.30. İj Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.11. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(5-metiltiyofen-2-il)-1H-imidazol (1k)

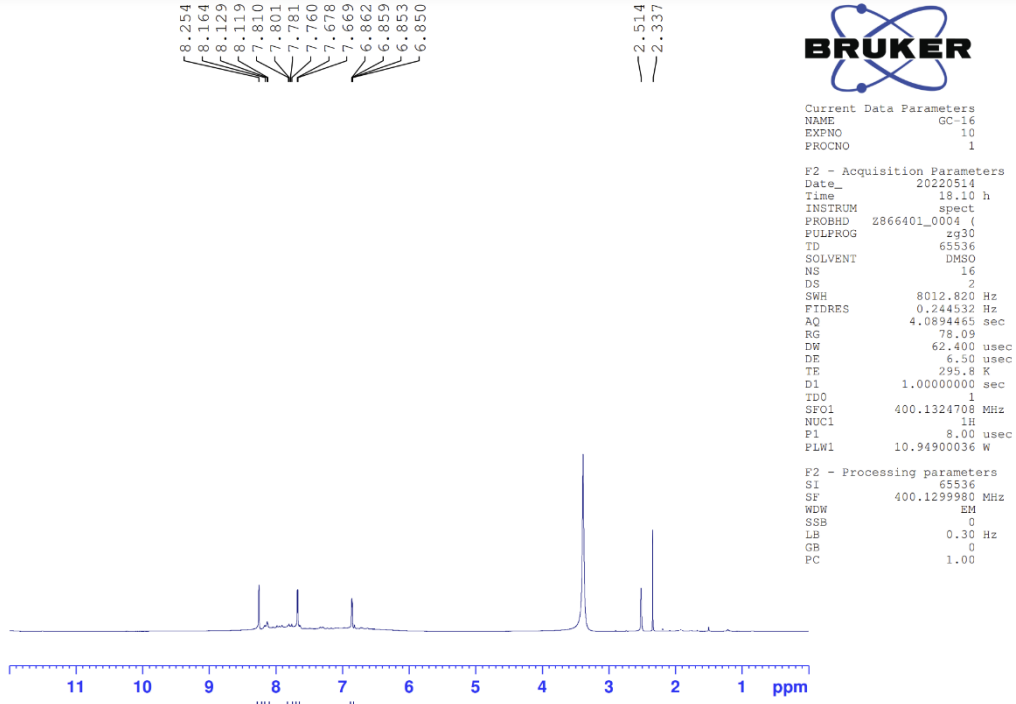


Deneysel E.n. >350 °C. Verim %76.

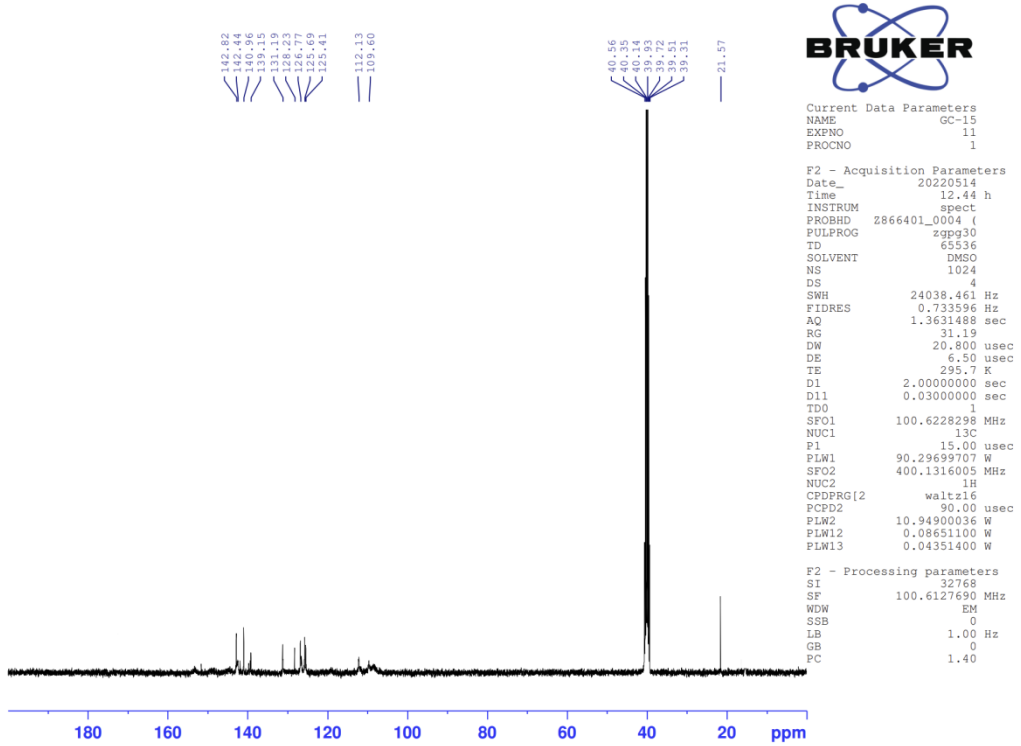
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 2.34 (3H, s, CH₃), 6.85-6.86 (2H, m, Furan CH), 7.67-7.68 (2H, m, Furan CH), 7.76-7.81 (1H, m, Furan CH), 8.12-8.16 (1H, m, Furan CH), 8.25 (2H, s, Furan CH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 21.57, 109.60, 112.13, 125.41, 125.69, 126.77, 128.23, 131.19, 139.15, 140.96, 142.44, 142.82.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₆H₁₂N₂O₂S Hesaplanan: 297.0692; Bulunan: 297.0684.



Şekil 5.31. 1k Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



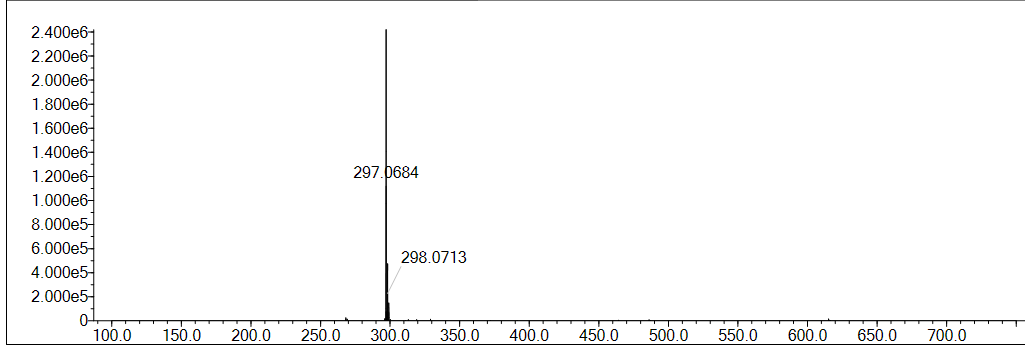
Şekil 5.32. 1k Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\uac\GC-15_35.lcd

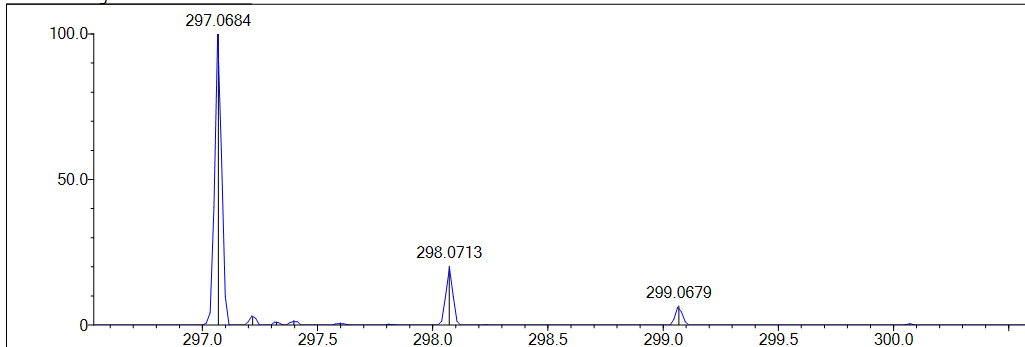
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	12	F	1	0	0	Br	1	0	0	H
C	4	7	35	P	3	0	0	Ru	2	0	0	Na
N	3	2	3	S	2	1	1	Pd	2	0	0	K
O	2	0	5	Cl	1	0	0	I	3	0	0	NH4

Error Margin (ppm): 5
 DBE Range: 5.0 - 25.0
 Electron Ions: both
 HC Ratio: unlimited
 Apply N Rule: yes
 Use MSn Info: yes
 Max Isotopes: 3
 Isotope RI (%): 1.00
 Isotope Res: 9000
 MSn Iso RI (%): 10.00
 MSn Logic Mode: AND
 Max Results: 50

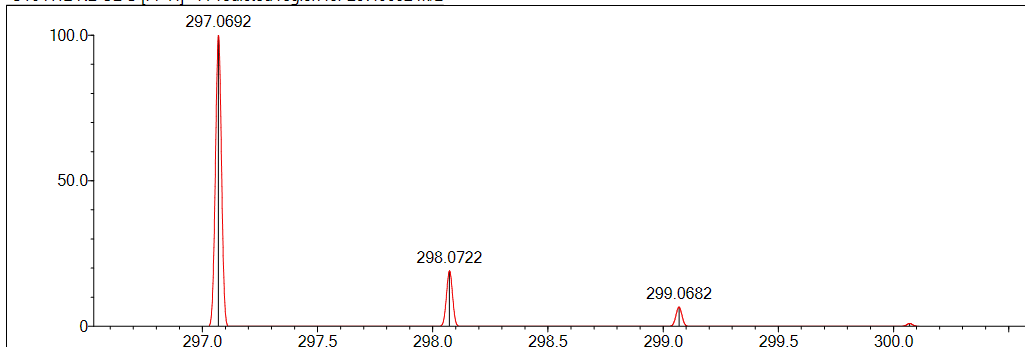
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.600 -> 3.253 Scan# : 391 -> 489



Measured region for 297.0684 m/z



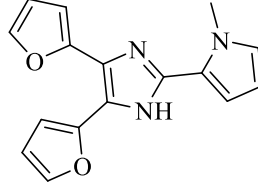
C16 H12 N2 O2 S [M+H]⁺ : Predicted region for 297.0692 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	80.88	C16 H12 N2 O2 S	[M+H] ⁺	297.0684	297.0692	-0.8	-2.69	84.45	12.0

Şekil 5.33. 1k Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.1.12. 4,5-Di(furan-2-il)-2-(1-metil-1H-pirol-2-il)-1H-imidazol (11)

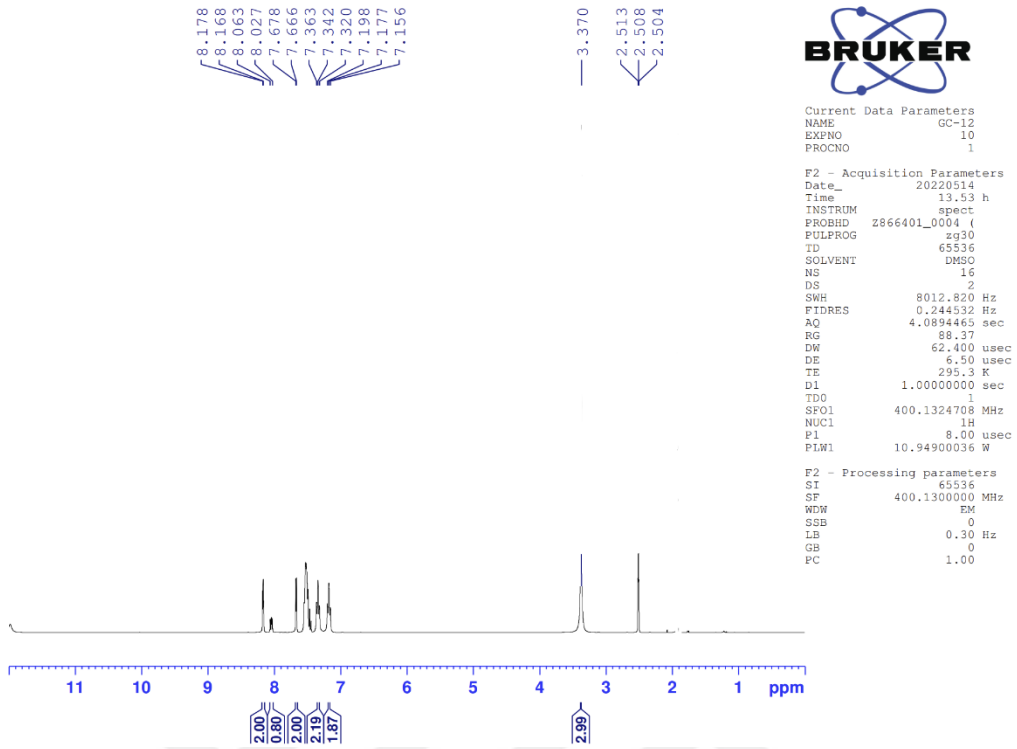


Deneyisel E.n. 221.8 °C. Verim %66.

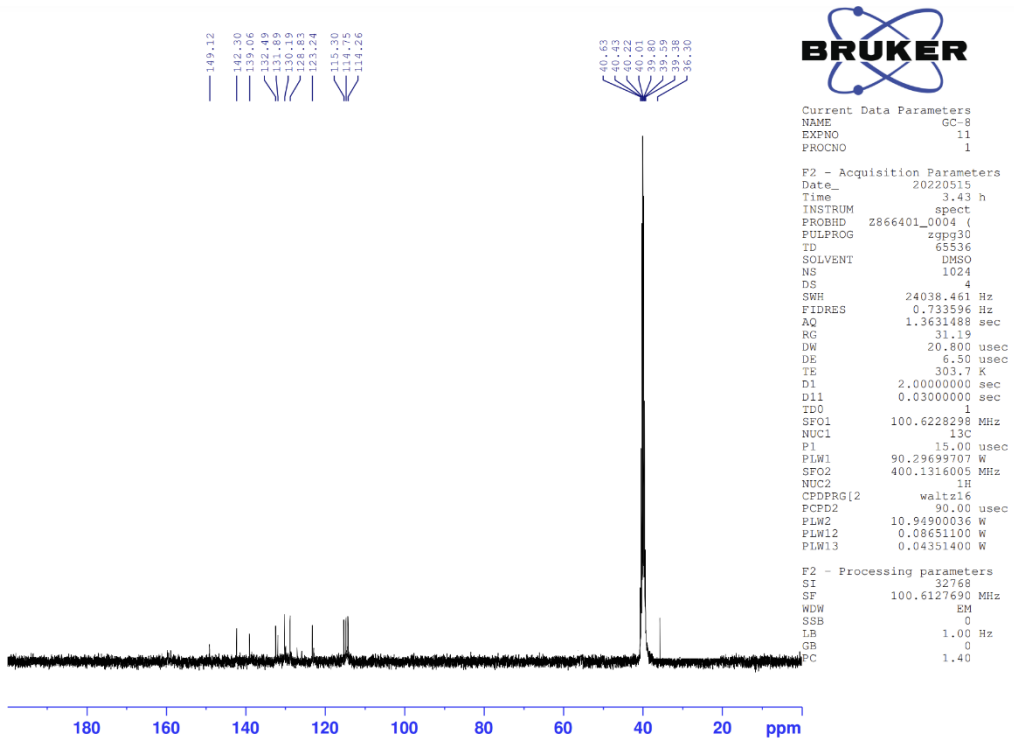
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 3.37 (3H, s, CH₃), 7.16-7.20 (2H, m, Aromatik CH), 7.32-7.36 (2H, m, Aromatik CH), 7.66-7.67 (2H, m, Aromatik CH), 8.03-8.06 (1H, m, Aromatik CH), 8.17-8.18 (2H, m, Aromatik CH).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ : 36.20, 114.26, 114.75, 115.30, 123.24, 128.83, 130.19, 131.89, 132.49, 139.06, 142.30, 149.12.

HRMS (m/z): [M+H]⁺ C₁₆H₁₃N₃O₂ Hesaplanan: 280.1081; Bulunan: 280.1070.



Şekil 5.34. II Bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 5.35. II Bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analizluac\A-19_171.lcd

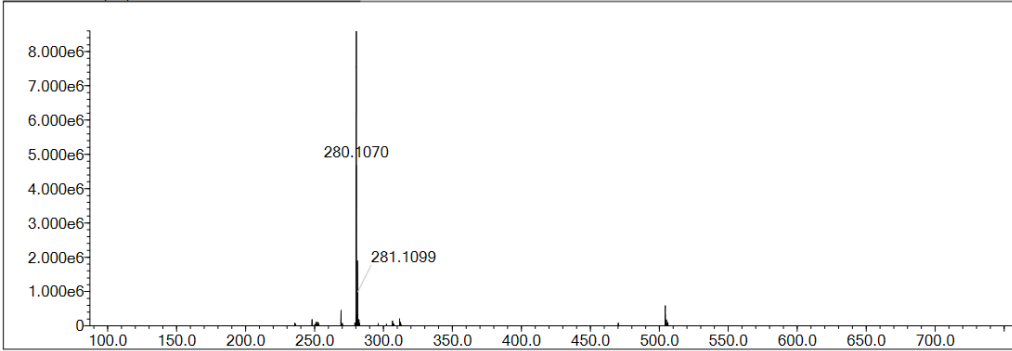
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	9	20	O	2	0	3	S	2	0	2	Ru	2	0	0	H
C	4	7	37	F	1	0	0	Cl	1	0	0	Pd	2	0	0	NH4
N	3	3	5	P	3	0	0	Br	1	0	0	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5
 HC Ratio: unlimited
 Max Isotopes: 3
 MSn Iso RI (%): 10.00

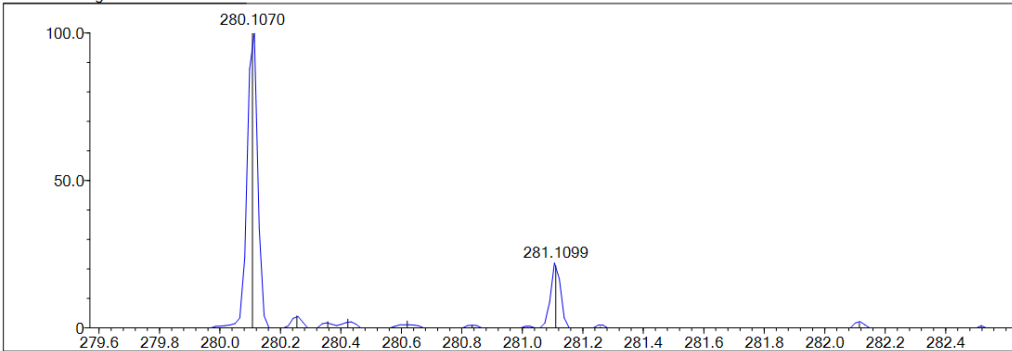
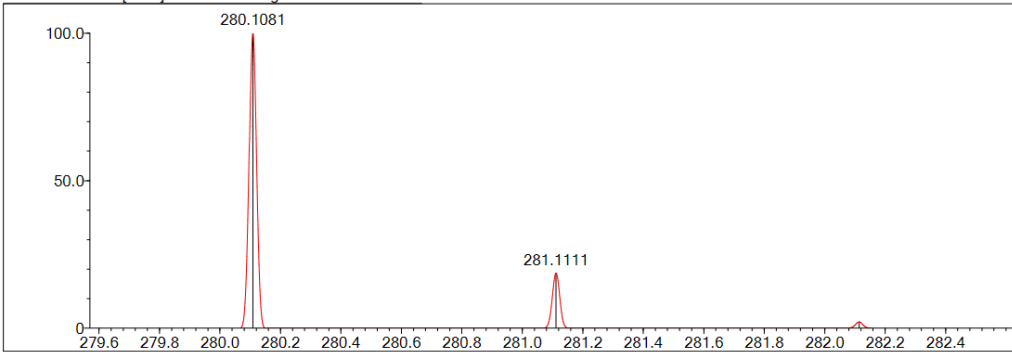
DBE Range: 5.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: yes
 Isotope Res: 9000
 Max Results: 50

Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 2.627 Scan# : 395



Measured region for 280.1070 m/z

C16 H13 N3 O2 [M+H]⁺ : Predicted region for 280.1081 m/z

Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	90.03	C16 H13 N3 O2	[M+H] ⁺	280.1070	280.1081	-1.1	-3.93	97.15	12.0

Şekil 5.36. II Bileşiğine ait Mass spektrumu

5.2. Sentez Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında Debus-Radziszewski yöntemi kullanılarak diketon türevleri amonyum asetat varlığında asetik asit içerisinde geri çeviren soğutucu altında kaynatılarak 2,4,5-trisüstitüe imidazol türevleri elde edilmiştir. Bileşiklerin sentezi için 4,4'-dimetilbenzil, α -furil ve 4,4'-diflorobenzil olmak üzere üç farklı diketon türevi kullanılmıştır. Aldehit türevi olarak furan, tiyofen ve pirol türevleri kullanılmış ve 12 adet yeni bileşik sentezlenmiştir.

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında elde edilen 12 adet yeni imidazol türevi bileşiklerin kimyasal yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler ile ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve Kütle Spektroskopisi) karakterize edilmiştir.

5.4. NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi

5.4.1. $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarının değerlendirilmesi

Bileşiklerden **1a**, **1b**, **1c** ve **1d** kodlu olanlar ortak olarak p-tolil yapısı taşımaktadırlar. Bu yapıda yer alan $-\text{CH}_3$ protonları 2.30-2.41 ppm arasında singlet olarak görülmüştür. **1a**, **1e** ve **1i** bileşiklerinde furan halkasının 5. konumunda yer alan CH_3 protonları 2.34-2.38 ppm arasında singlet olarak görülmüştür. **1c**, **1g** ve **1k** bileşiklerinde tiyofen halkasının 5. konumunda yer alan CH_3 protonları 2.34-2.50 ppm arasında singlet olarak görülmüştür. **1d**, **1h** ve **1l** bileşiklerinde yer alan 1-metilpirol yapısındaki CH_3 protonları ise 3.37-3.88 ppm arasında singlet olarak kaydedilmiştir. **1a**, **1b**, **1c**, **1d**, **1e**, **1f**, **1g** ve **1h** kodlu bileşikler yapılarında 1,4-disüstitüefenil yapısı içermektedir.

5.4.2. $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarının değerlendirilmesi

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen 12 adet yeni imidazol türevi bileşiklerin kimyasal yapılarında ortak olarak bulunan yapılar $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumlarında benzer yerlerde gözlenmiştir. Bileşiklerin yapılarında yer alan toplam karbon sayısı ile pikler beklenen sayıda gelmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları incelendiğinde, **1a**, **1b**, **1c** ve **1d** bileşiklerde ortak olarak bulunan fenil halkalarının 4. konumunda yer alan metil karbonları 21.24-21.51 ppm aralığında gözlenmiştir. **1a**, **1e** ve **1i** bileşiklerinde furan halkasının 5. konumunda yer alan CH_3 karbonları 13.43-13.86 ppm arasında gözlenmiştir.

1c, **1g** ve **1k** bileşiklerinde tiyofen halkasının 5. konumunda yer alan CH₃ karbonları 13.54-21.57 ppm aralığında tespit edilmiştir. **1d**, **1h** ve **1l** bileşiklerinde yer alan 1-metilpirol yapısındaki CH₃ karbonları ise 36.20-36.92 ppm arasında kaydedilmiştir.

5.4.3. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentez edilen bileşiklerin kütle spektrumları, elektron spray yöntemi kullanılarak pozitif iyonlaştırma tekniği ile çekilmiştir. Kütle spektrumlarında moleküllerin hesaplanan ağırlıklarının bir fazlası (M+1 pikleri; moleküler iyon pikleri) değere sahip pikler elde edilmiştir.

5.5. Antikanser Aktivite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.5.1. MTT yöntemi ile bileşiklerin sitotoksik etki sonuçları

Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 hücre dizisi üzerinde sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde **1a**, **1b**, **1d** ve **1k** kodlu bileşiklerin seri içerisinde umut verici etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Özellikle **1a** kodlu bileşiğin IC₅₀ değerinin (7,9 µM) cisplatinden (9,75 µM) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca **1b** ve **1d** bileşiklerinin sırasıyla 8,2 µM ve 8,7 µM IC₅₀ değerleri ile yine cisplatinden daha yüksek etkinliğe sahip oldukları tespit edilmiştir.

Bileşiklerin sentezinde 4,4'-dimetilbenzil, α-furil ve 4,4'-diflorobenzil olmak üzere üç farklı diketon türevi kullanılmıştır. Özellikle 4,4'-dimetilbenzil türevi bileşiklerin aktivite yönünden daha ön plana çıktığı görülmektedir. Özellikle imidazol halkasının 2. konumunda 5-metilfuran halkasını içeren **1a** kodlu bileşik serideki en yüksek etkinliğe sahiptir. Bileşiklerin selektivitelerini tespit etmek amacıyla L929 sağlıklı fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin sağlıklı hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi referans ilaç cisplatin ile benzer düzeyde ve umut vericidir. MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde etkili olduğu tespit edilen **1a,1b**, **1d** ve **1k** kodlu bileşikler *in vitro* aromataz aktivitesi için seçilmiştir.

Tablo 5.1. Bileşiklerin MCF-7 ve L929 hücre dizilerine ait IC₅₀ değerleri (μM)

Bileşik	MCF-7	L929
1a	7,9 μM	>100mM
1b	8,2 μM	>100mM
1c	>100mM	>100mM
1d	8,7 μM	>100mM
1e	>100mM	>100mM
1f	>100mM	>100mM
1g	>100mM	>100mM
1h	>100mM	>100mM
1i	>100mM	>100mM
1j	>100mM	87,8 μM
1k	10,09 μM	>100mM
1l	>100mM	>100mM
Cisplatin	9,75 μM	>100mM

5.5.2. Aromataz inhibisyon çalışmaları

En aktif bileşikler **1a,1b, 1d** ve **1k** 'nın *in vitro* anti-aromataz aktivitesi, referans ilaç olarak letrozol ile ticari florimetrik test kiti (Aromatase-CYP19A İnhibitör Tarama kiti, BioVİsion) kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 5.2 'de sunulmaktadır. Bileşikler arasında **1a** kodlu olanın 5,418±0,170μM IC₅₀ değeri ile en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Tablo 5.2. *1a,1b, 1d, 1k bileşikleri ve letrozol'ün aromataz enzimine karşı IC₅₀ (μM) değerleri*

Bileşik	Aromataz İnhibisyonu
1a	5,418±0,170
1b	8,786±0,195
1d	6,805±0,119
1k	6,138±0,210
Let.	0.114 ± 0.003

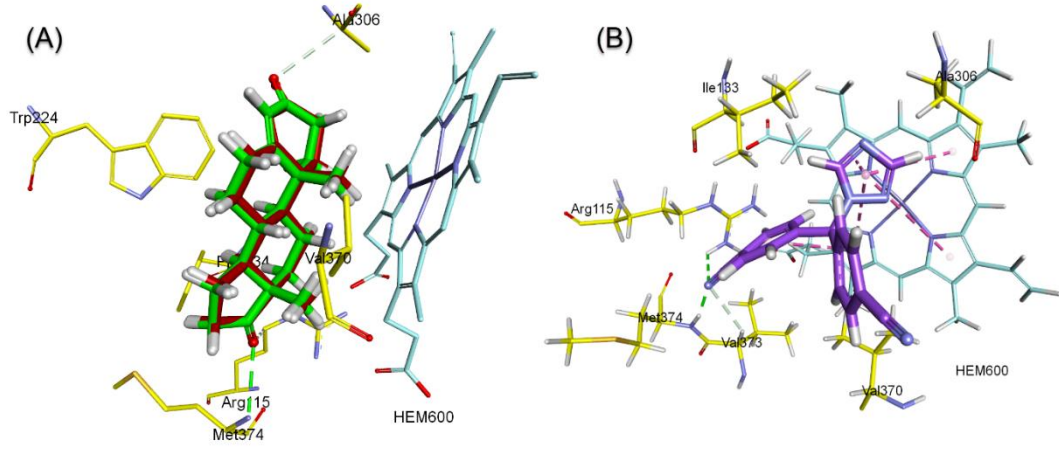
5.6. Moleküler Modelleme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Protein-ligand etkileşimlerini atomik düzeyde tahmin etmek amacıyla moleküler doking çalışmalarından faydalanılmaktadır [49]. Moleküler doking analizleri yapı bazlı ilaç tasarımlarında, küçük moleküllü bileşiklerin makro moleküller ile etkileşim enerjilerini hesaplamak için de kullanılmaktadır [50]. Bu çalışmada, aromataz inhibitörü olarak tasarlanan 2,4,5-trisüstitüe diazol türevlerin moleküler doking çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Önceki çalışmalarda olduğu gibi Glide SP ile yapılan moleküler doking çalışmasının validasyonu için, aromataz enzimi için seçilen PDB ID: 3EQM yapısında bulunan kokristal ligand ASD (4-androstan-3-17-dion) self-doking işlemi gerçekleştirilmiştir [51]. ASD'nin doking pozu ile doğal bağlanma pozu arasındaki RMSD değeri 0.0741 Å olarak ölçülmüştür (Şekil 5.37A). 3 Å'un altındaki RMSD (Ortalama Karekök Sapması) değeri doking bağlanma pozunun doğruluğunun kabul edilebilir olduğunu gösterebilir [52, 53]. Doking çalışması valide edildikten sonra, OPLS4 alan kuvvetleri ile üç boyutlu minimize yapıları oluşturulan aktif bileşikler **1a**, **1b**, **1d**, **1k** ve enzim aktivite çalışmalarında standart ilaç olarak kullanılan letrozol de Glide SP ile moleküler doking yapıldı. Moleküler doking analizinden anlaşıldığına göre, bir bileşiğin aromataz inhibitörü olarak aktivite gösterebilmesi için enzim yapısında bulunan kofaktör HEM ile π - π staking etkileşimleri önem arz etmektedir. Şekil 5.37B'de letrozol'ün bağlanma pozu ve protein-ligand etkileşimleri ve Şekil 5.38'de, bileşikler **1a**, **1b**, **1d** ve **1k**'nin aromataz aktif sitesindeki bağlanma pozları verilmiştir. Her 4 bileşik te, letrozol'de olduğu gibi, HEM ve Trp224 ile π - π staking etkileşimlerini vermektedir.

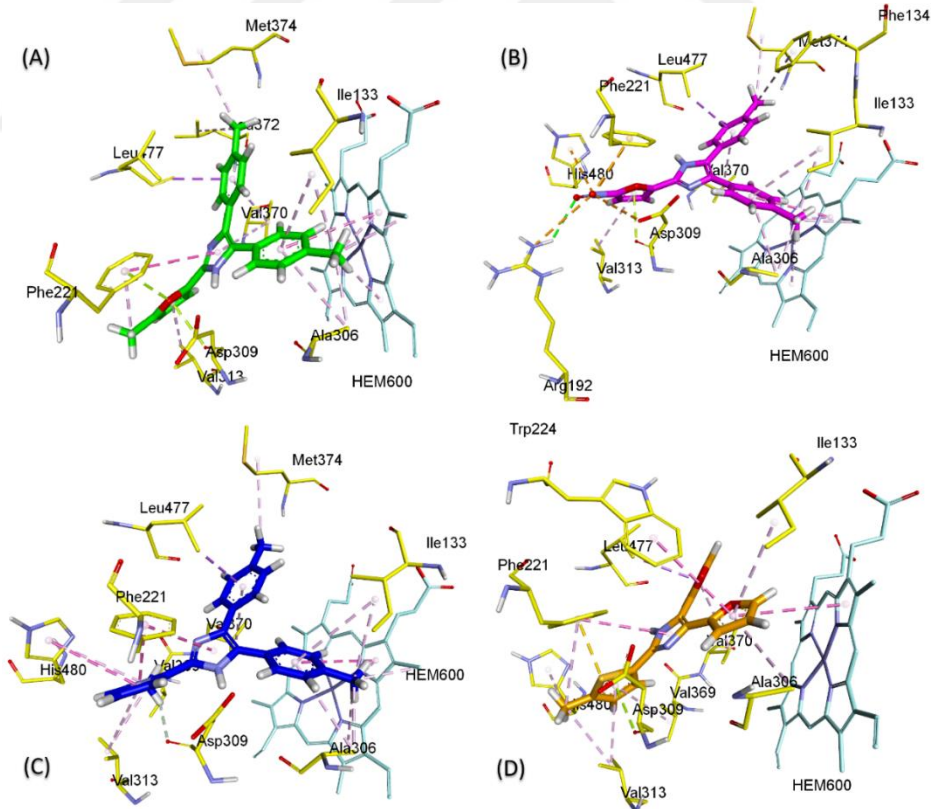
Hidrojen bağı, pozitif yüklü, negatif yüklü, polar, π -kasyon gibi protein-ligand etkileşim şekillerinin detayları Tablo 5.3’de verilmiştir. Bileşikler aromataz aktif sitesinde benzer bağlanma pozlarını vermişlerdir. Ayrıca Tablo 5.3’te Glide SP ligand dokingden elde edilen protein-ligand etkileşim enerjileri gösterilmiştir. Hem sitotoksiste hem de aromataz enzim deneylerinde en aktif bileşik olan **1a** en yüksek etkileşim enerjisi vermiştir. Letrozol -6.876 kcal/mol bağlanma enerjisi oluştururken diğer bileşikler **1b**, **1d** ve **1k** sırasıyla -8.059 kcal/mol, -6.876 kcal/mol ve -6.054 kcal/mol etkileşim enerjileri oluşturmuşlardır.

Tablo 5.3. Bileşikler **1a**, **1b**, **1d**, **1k** ve letrozol’ün aromataz aktif bölgesindeki protein-ligand etkileşim enerjileri (kcal/mol) ve etkileşim tiplerinin detayları

Bileşik	GlideGs core	Protein ligand etkileşimleri	
		π - π staking	Diğer etkileşim tipleri
1a	-8.224	Hem600 (5.30 Å), Trp224 (5.36 Å)	Arg115 ve Arg192 (Pozitif Yüklü), Thr310, Hie480 ve Ser478 (Polar) Glu302 ve Asp309 Arg192 (Negatif Yüklü), Phe221, Ile305, Ala306, Val313, Val369, Val370, Leu372, Val373, Met373 ve Leu477 (Hidrofobik)
1b	-8.059	Hem600 (5.30 Å), Trp224 (5.16 ve 5.38 Å)	Arg192 (Tuz Köprüsü, 4.44 Å), Hie480 (π -kasyon, 5.36 Å) ve Phe221 (π - kasyon, 3.94 Å), Arg115 ve Arg192 (Pozitif Yüklü), Thr310, Hie480 ve Ser478 (Polar) Glu302 ve Asp309 (Negatif Yüklü), Ile133, Phe134, Phe221, Trp224, Ile305, Ala306, Val313, Val369, Val370, Leu372, Val373, Met374 ve Leu477 (Hidrofobik)
1d	-6.876	Hem600 (5.38 Å), Phe221 (3.54 Å), Trp224 (5.17 Å)	Arg115 ve Arg192 (Pozitif Yüklü), Thr310, Hie480 ve Ser478 (Polar) Glu302 ve Asp309 (Negatif Yüklü), Ile133, Phe134, Phe221, Ile305, Ala306, Val313, Val369, Val370, Leu372, Val373, Met374, Leu477, Leu477, leu479 (Hidrofobik)
1k	-6.054	Trp224 (5.37 Å)	Arg192 (Pozitif Yüklü), Thr310, Hie480 ve Ser478 (Polar) Glu302 ve Asp309 (Negatif Yüklü), Ile133, Phe134, Phe221, Trp224, Ile305, Ala306, Val313, Val369, Val370, Leu372, Val373, Leu477, leu479, Pro481 (Hidrofobik)
Letrozol	-6.876	Hem600 (4.09, 5.15 ve 5.10 Å), Trp224 (5.47 Å)	Met374 (H bağı, 1.81 Å), Arg115 (Pozitif Yüklü), Thr310 ve Ser478 (Polar), Asp309 (Negatif Yüklü), Ile133, Phe134, Phe221, Trp224, Ile305, Ala306, Val313, Val369, Val370, Val373, Met374, Leu477 ve Leu477 (Hidrofobik)



Şekil 5.37. (A) Aromataz enzimi yapısında bulunan kokristal ASD'nin doğal bağlanma pozunu (yeşil) ve moleküler doking validasyonu için yapılan kokristal ligand ligand ASD'nin Glide SP dokingden elde edilen bağlanma pozunu (turuncu) (RMSD: 0.0741 Å) (B) Bir aromataz inhibitörü olan letrozol'ün aromataz aktif sitesindeki bağlanma pozunu.



Şekil 5.38. Glide SP moleküler doking çalışmasından elde edilen protein-ligand etkileşimleri. (A) Bileşik 1a, (B) bileşik 1b, (C) bileşik 1d ve (D) bileşik 1k'in insan aromataz enzimi aktif bölgesindeki bağlanma pozları (PDB ID: 3EQM.)

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında Debus-Radziszewski yöntemi kullanılarak yeni 12 adet imidazol türevi bileşik sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen orjinal bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve Kütle Spektroskopisi yöntem verileri ile aydınlatılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 hücre dizisi üzerinde sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde **1a**, **1b**, **1d** ve **1k** kodlu bileşiklerin seri içerisinde umut verici etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Özellikle **1a** kodlu bileşiğin IC₅₀ değerinin (7,9 µM) cisplatinden (9,75 µM) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin sentezinde 4,4'-dimetilbenzil, α-furil ve 4,4'-diflorobenzil olmak üzere üç farklı diketon türevi kullanılmıştır. Özellikle 4,4'-dimetilbenzil türevi bileşiklerin aktivite yönünden daha ön plana çıktığı görülmektedir. Özellikle imidazol halkasının 2. konumunda 5-metilfuran halkasını içeren **1a** kodlu bileşik serideki en yüksek etkinliğe sahiptir. Bileşiklerin selektivitelerini tespit etmek amacıyla L929 sağlıklı fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin sağlıklı hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi referans ilaç cisplatin ile benzer düzeyde ve umut vericidir. MCF-7 kanser hücre hattı üzerinde etkili olduğu tespit edilen **1a,1b**, **1d** ve **1k** kodlu bileşikler *in vitro* aromataz aktivitesi için seçilmiştir. Bileşikler arasında **1a** kodlu olanın 5,418±0,170µM IC₅₀ değeri ile en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar, bu bileşiklerin, yeni bir steroidal olmayan aromataz inhibitörleri sınıfının geliştirilmesi için ilginç bir yol gösterici olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

- [1] Coleman, W.B. and Tsongalis, G.J. (2017). Cancer epidemiology: incidence and etiology of human neoplasms. In *The molecular basis of human cancer*. Humana Press, New York, NY, 1-24.
- [2] Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. and Aster, J.C. (2014). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book*. Elsevier health sciences.
- [3] Hanahan, D. and Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer cell. *100* (1), 57-70.
- [4] Pecorino, L. (2021). *Molecular biology of cancer: mechanisms, targets, and therapeutics*. Oxford university press.
- [5] Love, R.R. (1994). Cellular and Molecular Biology of Cancer. In *Manual of Clinical Oncology* (pp. 3-17). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [6] Siegel Rebecca, L. and Miller Kimberly, D. (2019). Jemal Ahmedin. Cancer statistics, 2019. *CA: a cancer journal for clinicians*, 69(1), 7-34.
- [7] Miller, W.R.(1990). Endocrine treatment for breast cancers: biological rationale and current progress.*J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 37(4), 467-80.
- [8] Tannock, I.F. and Hill, R.P.(1992). *The basic science of Oncology*. 2end ed. Newyork, McGraw-Hill.
- [9] Macklin, M.T. (1959). Comparison of the number of breast cancer deaths observed inrelatives of patients and the number expected on the basis of mortality rates.*JNCI*. 22, 927- 940
- [10] Conzen, S.D., Grushko, T.A. and Olopade, O.I. (2008). The molecular biology of breast cancer. *Principles & Practice of Oncology*, 8, 1595-1654.
- [11] Wooster, R., Neuhausen, S. L., Mangion, J., Quirk, Y., Ford, D., Collins, N., ... & Stratton, M. R. (1994). Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, 265 (5181), 2088-2090.
- [12] Cohen, L.A., Kendall, M.E., Zang, E., Meschter, C. and Rose, D.P. (1991). Modulation of N-nitrosomethylurea-induced mammary tumor promotion by dietary fiber and fat. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 83(7), 496-501.
- [13] Reichman, M.E., Judd, J.T., Longcope, C., Schatzkin, A., Clevidence, B. A., Nair, P. P., ... & Taylor, P.R. (1993). Effects of alcohol consumption on plasma and urinary hormone concentrations in premenopausal women. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 85(9), 722-727.
- [14] Hancock, S.L., Tucker, M.A. and Hoppe, R.T. (1993). Breast cancer after treatment of Hodgkin's disease. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 85(1), 25-31.

- [15] Evans, J.S., Wennberg, J.E. and McNeil, B.J. (1986). The influence of diagnostic radiography on the incidence of breast cancer and leukemia. *New England Journal of Medicine*, 315(13), 810-815.
- [16] Miller, W.R. (2004). Biological rationale for endocrine therapy in breast cancer. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 18(1), 1-32.
- [17] Stephenson, G.D. and Rose, D. P. (2003). Breast cancer and obesity: an update. *Nutrition and cancer*, 45(1), 1-16.
- [18] Brueggemeier, R.W., Hackett, J.C. and Diaz-Cruz, E.S. (2005). Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Endocrine reviews*, 26(3), 331-345.
- [19] Ertaş, M. (2015). *Bazı 2-piridil-4-sübstitüe fenol tiyazol türevlerinin sentezi ve aromataz inhibisyonu etkilerinin araştırılması*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü.
- [20] Özcan Sezer, S. (2016). *Yeni sentezlenen melatonin analoglarının aromataz aktivitesi üzerine etkilerinin araştırılması*. Yayımlanmamış Doktora Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü.
- [21] Acar Çevik, U., Celik, I., Işık, A., Ahmad, I., Patel, H., Özkay, Y. and Kaplancıklı, Z. A. (2022). Design, synthesis, molecular modeling, DFT, ADME and biological evaluation studies of some new 1,3,4-oxadiazole linked benzimidazoles as anticancer agents and aromatase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-15.
- [22] Johnston, J. (1984). Aromatase: a target enzyme in breast cancer. *Novel Approaches Cancer Chemotherapy*, 307-28.
- [23] Kao, Y.C., Cam, L.L., Laughton, C.A., Zhou, D., Chen, S. (1996). Binding characteristics of seven inhibitors of human aromatase: a site-directed mutagenesis study. *Cancer Research*, 56(15), 3451-60.
- [24] Poulos, T.L., Finzel, B.C., Gunsalus, I.C., Wagner, G.C. and Kraut, J. (1985). The 2.6-Å crystal structure of *Pseudomonas putida* cytochrome P-450. *Journal of Biological Chemistry*, 260(30), 16122-16130.
- [25] Altıok M.S. (2019). *İmidazol halkası içeren trisiklik moleküllerin sentezi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü.
- [26] Hochachka, P.W. and Somero G.N. (2002). *Biochemical Adaptation: Mechanisms and Process in Physiological Evolution*. New York: Oxford University Press.
- [27] Katritzky, A. and Elguero, J. (1976). *The tautomerism of heterocycles*. Academic Press, London, England, 1, 61-79.

- [28] Karadeniz, C. (2019). Yeni imidazol, tiyazol ve benzofuran türevlerinin sentezleri ve teorik olarak incelenmeleri. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü.
- [29] Ebel, K., Koehler, H., Gamer, A.O. and Jäckh, R. (2012). Imidazole and Derivative. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 18, 637-644.
- [30] Evjen, S. and Fiksdahl, A. (2017). Syntheses of polyalkylated imidazoles. *Synthetic Communications*, 47(15), 1392-1399.
- [31] Liu, C., Dai, R.J., Yao, G.W. and Deng, Y.L.(2014). Synthesis of 2-aryyl-(4 or 5)-aryyl-1H imidazoles and 2-hydroxy-3,6-diaryl-pyrazines via a cascade process. *Arkivoc*, 4, 146-163.
- [32] Nagaraj, M., Boominathan, M., Muthusubramanian, S., Bhuvanesh, N. (2012). Microwave-assisted metal-free synthesis of 2,8-diaryl-6-aminoimidazo-[1,2-a]pyridine via amine-triggered benzannulation. *Synlett*, 23, 1353-1357.
- [33] Osmaniye, D., Levent, S., Sağlık, B.N., Karaduman, A.B., Özkay, Y. And Kaplancıklı, Z.A. (2022). Novel imidazole derivatives as potential aromatase and monoamine oxidase-B inhibitors against breast cancer. *New Journal of Chemistry*, 46(16), 7442-7451.
- [34] Avvaru, S.P., Noolvi, M.N., More, U.A., Chakraborty, S., Dash, A., Aminabhavi, T. M. And Sutariya, V. (2021). Synthesis and anticancer activity of thiadiazole containing thiourea, benzothiazole and imidazo [2,1-b][1,3,4] thiadiazole scaffolds. *Medicinal Chemistry*, 17(7), 750-765.
- [35] Begum, S., Jaswanthi, P., Lakshmi, B. V. And Bharathi, K. (2021). QSAR studies on indole-azole Analogues using DTC tools; imidazole ring is more favorable for aromatase inhibition. *Journal of the Indian Chemical Society*, 98(1), 100016.
- [36] Ammazalorso, A., Gallorini, M., Fantacuzzi, M., Gambacorta, N., De Filippis, B., Giampietro, L. and Amoroso, R. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of imidazole and triazole-based carbamates as novel aromatase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 211, 113115.
- [37] Acar Çevik, U., Sağlık, B.N., Osmaniye, D., Levent, S., Kaya Çavuşoğlu, B., Karaduman, A.B., Ozkay, Y. and Kaplancıklı, Z. A. (2020). Synthesis and docking study of benzimidazole–triazolo thiadiazine hybrids as aromatase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 353(5), e2000008.
- [38] Burdzhiev, N.T., Baramov, T.I., Stanoeva, E.R., Yanev, S.G., Stoyanova, T.D., Dimitrova, D.H. and Kostadinova, K.A. (2019). Synthesis of novel trans-4-(phthalimidomethyl)-and 4-(imidazol-1-ylmethyl)-3-indolyl-tetrahydroisoquinolinones as possible aromatase inhibitors. *Chemical Papers*, 73(5), 1263-1277.

- [39] Sable, P.M. and Potey, L.C. (2018). Synthesis and antiproliferative activity of imidazole and triazole derivatives of flavonoids. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52(5), 438-443.
- [40] Kalalinia, F., Jouya, M., Komachali, A. K., Aboutourabzadeh, S. M., Karimi, G., Behravan, J. And Hadizadeh, F. (2018). Design, synthesis, and biological evaluation of new azole derivatives as potent aromatase inhibitors with potential effects against breast cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 18(7), 1016-1024.
- [41] Adhikari, N., Amin, S. A., Jha, T. and Gayen, S. (2017). Integrating regression and classification-based QSARs with molecular docking analyses to explore the structure-anti-aromatase activity relationships of letrozole-based analogs. *Canadian Journal of Chemistry*, 95(12), 1285-1295.
- [42] DiMatteo, M., Ammazalorso, A., Andreoli, F., Caffa, I., De Filippis, B., Fantacuzzi, M. And Amoroso, R. (2016). Synthesis and biological characterization of 3-(imidazol-1-ylmethyl) piperidine sulfonamides as aromatase inhibitors. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 26(13), 3192-3194.
- [43] Ghodsi, R., Azizi, E., Grazia Ferlin, M., Pezzi, V. and Zarghi, A. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of 4-(imidazolylmethyl)-2-aryl-quinoline derivatives as aromatase inhibitors and anti-breast cancer agents. *Letters in Drug Design & Discovery*, 13(1), 89-97.
- [44] Dai, Y., Xiao, Y., Wang, Q., Wei, S., Zhang, X., Ma, Z. and Zhang, T. (2014). Synthesis and QSAR studies of benzylimidazole derivatives and benzylcarbazole as potential aromatase inhibitors. *Asian Journal of Chemistry*, 26(8), 2381.
- [45] Wang, R., Shi, H. F., Zhao, J. F., He, Y. P., Zhang, H.B. and Liu, J. P. (2013). Design, synthesis and aromatase inhibitory activities of novel indole-imidazole derivatives. *Bioorganic medicinal chemistry letters*, 23(6), 1760-1762.
- [46] Richard, R., Cuperlovic-Culf, M., Robichaud, G.A. and Touaibia, M. (2011). Synthesis and structure activity relationship of 1- and 2-substituted-1,2,3-triazole letrozole-based analogues as aromatase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 4010-4024.
- [47] Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M. and Pangborn, W. (2009). Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase. *Nature*, 457(7226), 219-223.
- [48] Friesner, R.A., Banks, J. L., Murphy, R. B., Halgren, T. A., Klicic, J. J., Mainz, D. T. and Shenkin, P.S. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1739-1749.
- [49] Suvannang, N., Nantasenamat, C., Isarankura-Na-Ayudhya, C. ve Prachayasittikul, V. (2011). Molecular docking of aromatase inhibitors. *Molecules*, 16(5), 3597-3617.

- [50] Giampietro, L., Gallorini, M., Gambacorta, N., Ammazalorso, A., De Filippis, B., Della Valle, A. and Amoroso, R. (2021). Synthesis, structure-activity relationships and molecular docking studies of phenyl diazenyl sulfonamides as aromatase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113737.
- [51] Acar Çevik, U., Celik, I., Işık, A., Ahmad, I., Patel, H., Özkay, Y. and Kaplancıklı, Z.A. (2022). Design, synthesis, molecular modeling, DFT, ADME and biological evaluation studies of some new 1, 3, 4-oxadiazole linked benzimidazoles as anti cancer agents and aromatase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-15.
- [52] Çapan, İ., Shehu, A., Sert, Y., Çelik, İ., Erol, M., Koca, İ. and Servi, S. (2022). Synthesis, molecular docking, molecular Dynamics and evaluation of Drug-Likeness properties of the fused N-Formyl pyrazoline substituted new dehydro epiandrosterone derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-12.
- [53] Çevik, U. A., Celik, I., Mella, J., Mellado, M., Özkay, Y. and Kaplancıklı, Z. A. (2022). Design, Synthesis, and Molecular Modeling Studies of a Novel Benzimidazole as an Aromatase Inhibitor. *ACS omega*.