



T.C.

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı

Farmasötik Bilimler Doktora Programı

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK
YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE
BİYOLOJİK ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ural Ufuk DEMİREL

Doktora Tezi

Danışman

Prof. Dr. Mehmet TANOL

Eş Danışman

Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN

İstanbul, 2021

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK YENİ
BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ural Ufuk DEMİREL

Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı

Doktora Tezi

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

2021

Ural Ufuk DEMİREL tarafından hazırlanmış ve 26.08.2021 tarihinde sunulmuş “KANŞER TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK YENİ BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı, Farmasötik Bilimler Doktora Programında Doktora Tezi olarak **oy birliğı** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN

Eş Danışman

Prof. Dr. Mehmet TANOL

Danışman

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Mehmet TANOL

Eczacılık Fakültesi,
Altınbaş Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Bahadır BÜLBÜL

Eczacılık Fakültesi,
Altınbaş Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Gaye HAFEZ

Eczacılık Fakültesi,
Altınbaş Üniversitesi

Prof. Dr. Özlen GÜZEL AKDEMİR

Eczacılık Fakültesi,
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. İlkay YILDIZ

Eczacılık Fakültesi,
Ankara Üniversitesi

Bu tezin Doktora Tezi olarak bütün şartları sağladığını beyan ederim.

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü kabul tarihi:

____/____/____

Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışlara uygun olarak edinildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde, bu çalışmada, orijinal olmayan tüm materyalleri ve sonuçları tamamen alıntı yaptığımı ve referans gösterdiğimi de beyan ederim.

Ural Ufuk DEMİREL

İmza

XXXXXX

İTHAF

Destegini hiçbir zaman esirgemeyen rahmetli babam ve sevgili anneme.



ÖNSÖZ

Bu çalışma Prof. Dr. Mehmet TANOL'ün danışmanlığında ve Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN'in eş danışmanlığında hazırlanarak Altınbaş Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Farmasötik Bilimler ABD, Farmasötik Bilimler Doktora Programına doktora tezi olarak sunulmuştur.

Tez konumun seçiminde, hazırlanmasında ve yürütülmesinde bana destek veren, beni yönlendiren ve yardımlarını hiç eksik etmeyen, sabırla danışmanlıktan çok ötesini yapan, saygı değer hocamlarım Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN ve Prof. Dr. Mehmet TANOL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sentezlenen bileşiklerin spektral analizlerini özenle yapan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya ABD öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hakan GÖKER'e ve aktivite tayin çalışmalarımı özveri ile yapan İstanbul Üniversitesi Farmasotik Toksikoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Sibel ÖZDEN'e Biruni üniversitesi Farmasotik Toksikoloji ABD öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Fatma Ecem KARAMAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmalarım boyunca bana her konuda destek olan Altınbaş Üniversitesi Eczacılık Fakültesinin birbirinden kıymetli bütün hocalarına, asistan arkadaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu süreçte desteğini ve çok daha fazlasını hep yanımda hissettiğim, hayat arkadaşım, değerli eşim Suphiye'ye gönülden teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK YENİ
BİLEŞİKLERİN TASARIMI, SENTEZİ VE BİYOLOJİK
ETKİNLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DEMİREL, Ural Ufuk

Doktora, Farmasötik Bilimler, Altınbaş Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Mehmet TANOL

Eş Danışman: Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN

Tarih: 08/2021

Sayfa: 162

Birçok kimyasal yapı arasında, kansere karşı yeni terapötik ajanlar geliştirmek için isatin türevleri yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. İndol ya da isatin türevi (sunitinib, semaxanib ve nintedanib), bileşikler bazı kanser türlerinin tedavisi için tirozin kinaz inhibitörleri olarak halihazırda kullanılmaktadır. Sorafenib nilotinib ve ponatinib gibi amid veya üre grupları bulunduran, sunitinib gibi Schiff bazı grubu bulunduran ilaçlar kinaz inhibitörü antikanser ajanlar olarak kanser tedavisinde rol almaktadırlar.

Bu tez çalışması kapsamında, isatin halkasının üçüncü konumundan elde edilen Schiff bazlarının sorafenibin yapısından esinlenerek üre, ve üre fonksiyonel grubunun biyoizosteri olan sülfonamid grubu bulunduran türevlerinin tasarlanması, sentezlenmesi, antikanser özelliklerinin HepG2, PC-3, A549, SH-SY5Y hücre hatlarına karşı test edilmesi, kimyasal yapı ile reseptöre bağlanma özellikleri arasındaki ilişkinin Autodock 4.2 programı kullanılarak değerlendirilmesi ve bileşiklerin ilaca benzer özellikler taşıyıp taşımadıklarının ADME tahmin verilerine göre belirlenmesi amaçlanmıştır. Sentezlenen 16 yeni sonuç bileşiğinin ve ara basamakların kimyasal yapıları ve saflıkları erime noktası tayini, IR spektroskopisi, ¹H-NMR, LC-MS analizleri, sonuç bileşikleri için ek olarak ¹³C-NMR analizi kullanılarak kanıtlanmıştır.

Sentezlenen bileşikler arasında sonuçlar, **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** bileşiklerinin sırasıyla, 31.97, 42.13, 31.50, 47.98, 32.59, 43.44 ve 37.81 µM IC₅₀ değerleri ile HepG2 hücrelerine karşı hücrel proliferasyon aktivitesinin inhibisyonuna ve sağlıklı NIH/3T3 hücrelerinde

zayıf sitotoksik etkiye sahip oldukları bulundu. Moleküler Docking çalışmaları, en aktif bileşik olan 7c'nin, diğer aktif bileşiklere kıyasla NS5B polimerazın reseptör bağlanma bölgesi ile etkili bağlanma özellikleri gösterdikleri ve ADME tahmin çalışmalarına göre sentezlenen tüm bileşiklerin ilaça benzer özelliklere sahip olduğu saptandı.

İn vitro deneyler ve *in silico* çalışmalar, isatin Schiff bazlarının yeni üre ve sülfonamid türevlerinin, referans bileşik olan doksorubisin ile karşılaştırılabilir düzeyde aktiviteye sahip olduklarını göstermiştir. Bu tip bileşiklerin hepatosellüler karsinomaya neden olan HCV-NS5B'ye karşı aktif olabileceği ve bu bileşiklere benzer tasarlanacak bileşiklerde daha etkin moleküller bulma olasılığı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Üre ve sülfonamid türevleri, İsatın Schiff bazları, Sitotoksiste, Antikanser, Moleküler doking, ADME tahmini.

ABSTRACT

DESIGN, SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF NEW COMPOUNDS THAT CAN BE USED IN CANCER TREATMENT

DEMİREL, Ural Ufuk

PhD, Pharmaceutical Sciences, Altınbaş University

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet TANOL

Co-Supervisor: Prof. Dr. Süreyya ÖLGEN

Date: 08/2021

Pages: 162

Among the many chemical structures, isatin is used extensively to develop new types of agents against cancer. Indole or isatin derivative (sunitinib, semaxanib, and nintedanib), compounds are currently used as tyrosine kinase inhibitors for the treatment of certain types of cancer. Drugs that contain amide or urea groups such as sorafenib, nilotinib and ponatinib, and Schiff bases such as sunitinib, have a role in cancer treatment as kinase inhibitor anticancer agents.

Within the scope of this thesis, designing and synthesizing derivatives of Schiff bases obtained from the third position of the isatin ring, inspired by the structure of sorafenib, containing urea and sulfonamide group, which is the bioisoster of the urea functional group, and testing their anticancer properties against HepG2, PC-3, A549, SH-SY5Y cell lines. In this study, it was aimed to evaluate the relationship between the structure of compounds and binding properties to the receptor by using the Autodock 4.2 program and to determine whether the compounds have drug-like properties according to the ADME prediction data. The chemical structures and purity of 16 synthesized new compounds and intermediate steps were identified using melting point determination, IR spectroscopy, ¹H-NMR, LC-MS analyses additionally ¹³C-NMR analysis for the new compounds.

Among the synthesized compounds, the results showed that compounds **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** and **8f** induce inhibition of cellular proliferation activity against HepG2 cells with IC₅₀ values of 31.97, 42.13, 31.50, 47.98, 32.59, 43.44 and 37.81 μ M, respectively, while they have weak cytotoxic effect in healthy NIH/3T3 cells. Molecular Docking studies revealed that **7c**, the most active compound, showed effective binding properties with the receptor binding site of NS5B polymerase compared to other active compounds, and all compounds synthesized, were found to have drug-like properties according to ADME prediction studies. In vitro experiments and in silico studies have shown that new urea and sulfonamide derivatives of isatin Schiff bases have activity comparable to the reference compound doxorubicin. It was concluded that this type of compounds may be active against HCV-NS5B causing hepatocellular carcinoma and there is a possibility to find more effective molecules in compounds that will be designed similar to these compounds.

Keywords: Urea and sulfonamide derivatives, Isatin Schiff bases, Cytotoxicity, Anticancer, Molecular docking, ADME prediction.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İTHAF	v
ÖNSÖZ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. PROTEİN TİROZİN KİNAZLAR.....	7
2.2. RESEPTÖR TİROZİN KİNAZLAR.....	8
2.2.1. Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF).....	10
2.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Epidermal Growth Factor, EGF).....	10
2.2.3. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF)	11
2.2.4. Reseptör Tirozin Kinazların Aktivasyonu.....	11
2.2.5. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Hepatosellüler Karsinom ilişkisi.....	12
2.2.6. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İlişkisi	13
2.2.7. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Nöroblastoma İlişkisi	14
2.3. SİTOPLAZMİK TİROZİN KİNAZLAR.....	15
2.3.1. SFK Non-Reseptör Tirozin Kinazlar.....	16
2.3.2. Src Non-Reseptör Tirozin Kinazların Aktivasyonu	18
2.3.3. Sitoplazmik Tirozin Kinazlar ve Prostat Kanseri İlişkisi	19
2.4. TİROZİN KİNAZLARIN HÜCRE İÇİ SİNYAL İLETİMİNDEKİ ROLÜ	20
2.5. PROTEİN TİROZİN KİNAZLARIN ONKOJENİK AKTİVASYONU	22
2.6. TÜMÖR OLUŞUMUNDA ANJİYOGENEZİN ROLÜ	23
2.7. TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ	24
2.8. TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ TASARIM STRATEJİLERİ	24
2.9. KANSER TEDAVİSİNDE TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİNE KARŞI DİRENÇ GELİŞİMİ	29
2.10. İNDOL HALKASI TAŞIYAN TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLER.....	30
2.11. İSATİN (İNDOL-2,3-DİON) YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ	34
2.11.1. İsatinin Redüksiyonu.....	35

2.11.2. İsatinin Oksidasyonu	36
2.12. İSATİN GENEL SENTEZ YÖNTEMLERİ	36
2.12.1. Sandmeyer Yöntemi	36
2.12.2. Stolle Yöntemi	37
2.12.3. Martinet Yöntemi	37
2.12.4. Gassman Yöntemi	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. TASARLANAN TÜREVLERİN SENTEZLERİ	39
3.1.1. 5',5'-dimetil-5-nitrospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Türevinin Sentezi Bileşik 1	40
3.1.2. 5-amino-5',5'-dimetilspiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Türevinin Sentezi Bileşik 2	40
3.1.3. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-sübstitüeüre Türevlerinin Sentezi Bileşikler 3a ve 3b	40
3.1.4. N-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)sülfonamid Türevlerinin Sentezi Bileşikler 4a ve 4b	41
3.1.5. 1-(2,3-dioksoindolin-5-il)-3- sübstitüe üre ve N-(2,3-dioksoindolin-5-il) sülfonamid Türevlerinin Sentezi Bileşikler 5a, 5b ve 6a, 6b	41
3.1.6. (E/Z)-1-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)-3-sübstitüe üre ve (E/Z)-N-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)sülfonamid Türevlerinin Sentezi Bileşikler 7a-h ve 8a-h	42
3.2. ANALİZLERDE KULLANILAN YÖNTEMLER	43
3.2.1. Kromatografik Analizler	43
3.2.2. Erime Noktası Tayinleri	43
3.2.3. Spektral Analizler	43
3.2.3.1. IR spektrumları	43
3.2.3.2. ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	43
3.2.3.3. Kütle (Mass) spektrumları	44
3.3. SENTEZ İŞLEMLERİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	44
4. BULGULAR	45
4.1. BAŞLANGIÇ MADDELERİNİN SENTEZİ	45
4.1.1. 5',5'-dimetil-5-nitrospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Sentezi (1)	45
4.1.2. 5-amino-5',5'-dimetilspiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Sentezi (2)	45
4.1.3. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-fenilüre Sentezi (3a)	46
4.1.4. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-p-tolilüre	

Sentezi (3b)	48
4.1.5. <i>N</i> -(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (4a).....	51
4.1.6. <i>N</i> -(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-4-metilbenzen	
sülfonamid Sentezi (4b)	53
4.1.7. 1-(2,3-dioksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (5a).....	56
4.1.8. 1-(2,3-dioksoindol-5-il)-3-(<i>p</i> -tolil)üre Sentezi (5b)	58
4.1.9. <i>N</i> -(2,3-dioksoindol-5-il)benzensülfonamid Sentezi (6a).....	61
4.1.10. <i>N</i> -(2,3-dioksoindol-5-il)-4-metilbenzensülfonamid Sentezi (6b).....	63
4.2. SONUÇ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ	66
4.2.1. (<i>E/Z</i>)-1-(2-okso-3-(<i>p</i> -tolilimino)indol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7a).....	66
4.2.2. (<i>E/Z</i>)-1-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7b)	69
4.2.3. (<i>E/Z</i>)-1-(2-okso-3-(fenilimino)indol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7c)	72
4.2.4. (<i>E/Z</i>)-1-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7d)	75
4.2.5. (<i>E/Z</i>)-1-(2-okso-3-(<i>p</i> -tolilimino)indolin-5-il)-3-(<i>p</i> -tolil)üre Sentezi (7e)	78
4.2.6. (<i>E/Z</i>)-1-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)-3-(<i>p</i> -tolil)üre Sentezi (7f).....	81
4.2.7. (<i>E/Z</i>)-1-(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)-3-(<i>p</i> -tolil)üre Sentezi (7g).....	84
4.2.8. (<i>E/Z</i>)-1-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)-3-(<i>p</i> -tolil)üre Sentezi (7h)	87
4.2.9. (<i>E/Z</i>)- <i>N</i> -(2-okso-3-(<i>p</i> -tolilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8a)	90
4.2.10. (<i>E/Z</i>)- <i>N</i> -(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (8b)	93
4.2.11. (<i>E/Z</i>)- <i>N</i> -(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8c)	96
4.2.12. (<i>E/Z</i>)- <i>N</i> -(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (8d)	99
4.2.13. (<i>E/Z</i>)-4-metil- <i>N</i> -(2-okso-3-(<i>p</i> -tolilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (8e).....	102
4.2.14. (<i>E/Z</i>)- <i>N</i> -(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)-4-metilbenzensülfonamid	
Sentezi (8f)	106
4.2.15. (<i>E/Z</i>)-4-metil- <i>N</i> -(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (8g)	109
4.2.16. (<i>E/Z</i>)-4-metil- <i>N</i> -(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid	
Sentezi (8h)	113
4.3. SENTEZLENEN TÜREVLERİN ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI	116
4.3.1. Hücre Kültürü Çalışmaları	116
4.3.2. <i>In Vitro</i> Sitotoksikite Testleri (MTT Testleri)	116

4.3.3. Sentezlenen Türevlerin Antikanser Aktivite Sonuçları.....	117
4.4. SENTEZLENEN TÜREVLERİN MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI.....	119
4.4.1. Sentezlenen Türevlerin Docking Sonuçları.....	119
4.5. SENTEZLENEN TÜREVLERİN ADME TAHMİNLERİ	122
4.5.1. Sentezlenen Türevlerin ADME Tahminleri Sonuçları	123
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	125
5.1. HEDEF BİLEŞİKLERİN TASARIMI VE SENTEZİ	125
5.2. SİTOTOKSİK AKTİVİTE SONUÇLARI.....	132
5.3. MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI	134
5.4. ADME TAHMİN ÇALIŞMALARI.....	136
REFERANSLAR.....	139
ÖZGEÇMİŞ.....	150

KISALTMALAR

A549	:	İnsan akciğer karsinomu
Abl	:	Abelson tirozin kinaz
ATP	:	Adenozin trifosfat
Bcr-Abl	:	Birleşme bölgesindeki kırılma noktası-Abelson murin lösemi füzyon proteini
CML	:	Kronik miyeloid lösemi
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
EGF	:	Epidermal büyüme faktörü
EGFR	:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
Eph	:	Efrin reseptörleri
ERK	:	Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
FDA	:	Gıda ve ilaç dairesi
FAK	:	Fokal adezyon kinaz
FGF	:	Fibroblast büyüme faktörü
FGFR	:	Fibroblast büyüme faktör reseptörü
HepG2	:	İnsan hepatoselüler karsinomu
HER	:	İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü
JAK	:	Janus kinaz ailesi
MAPK	:	Mitojen vasıtası ile aktive edilen protein kinaz
NIH/3T3	:	Fare fibroblast hücre hatları
NMR	:	Nükleer manyetik rezonans
NRTK	:	Non-Reseptör tirozin kinaz
PC-3	:	İnsan prostat adenokarsinomu
PDGF	:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PDGFR	:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü

PI3K	:	Fosfoinositid 3-kinazlar
PIP ₂	:	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat
PTK	:	Protein tirozin kinaz
RMSD	:	Sapma ortalamasının kare kökü
RTK	:	Reseptör tirozin kinaz
SFK	:	Src ailesi kinaz
SH-SY5Y	:	İnsan nöroblastomu
Src	:	Sarcoma tirozin kinaz
STAT	:	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü yapan proteinler
VEGF	:	Vasküler endotel büyüme faktörü
VEGFR	:	Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü
IL-8	:	İnterlökin-8

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, hücredeki genetik materyalde kalıtsal ya da çevresel etkenlerle meydana gelen bir hasar ya da mutasyon sonucunda, hücrelerin kontrolsüz şekilde büyümesi ve bölünmesiyle tanımlanan bir hastalıktır. Kanser oluşumunda kalıtsal ve çevresel faktörlerin etkili olduğu yapılan birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Tecen, 2016).

Oluşan somatik kanser hücreleri genetik değişiklikler sonucu altı temel özellik kazanırlar.

- a. Hücre dışından gelen büyüme sinyallerinden bağımsız olarak büyüyebileme
 - b. Hücre dışından gelen büyüme karşıtı sinyallere tepkisiz kalınması
 - c. Programlı hücre ölümünün (Apoptoz) gerçekleşmemesi
 - d. Sınırsız bölünme yeteneği
 - e. Neoplastik dokuda anjiyogenezin artması
 - f. Metastaz yeteneği kazanması ve başka tümörlere neden olması
- (Strachan ve Read, 2011).

Kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelerden farklı olarak, bölünme düzenleyici sinyallere karşı koyarak bölünmesinin zararlarının yanı sıra bulundukları yerden başka yerlere de yayabilmeleri kanser hücrelerini daha da tehlikeli kılmaktadır. Normal olmayan bir hücre kontrolsüz çoğalmıyorsa ve bulunduğu yerden başka bir yere yayılmıyorsa daha az tehlikelidir. Neoplastik hücreler kitle halinde bir arada bulunuyorlarsa bu tip kümelere iyi huylu tümörle denir. İyi huylu tümörlerde kitle cerrahi yolla çıkarılarak tedavi sağlanabilir. Kötü huylu tümörlerde tümör hücreleri etrafındaki dokuya yayılabilme yeteneği kazanmışlardır, kötü huylu tümörler kanser olarak adlandırılırlar. Kanserli kişinin tedavisi sadece kanserin tipine bağlı değildir kanserin yayılma eğilimine ve tedaviye olan duyarlılığına bağlıdır.

Bir hücrenin meydana gelmesinden ölümüne kadar gerçekleşen yaşamsal faaliyetler genler tarafından kontrol edilir. Kanser genlerle ilişkili bir hastalıktır ancak kanser oluşumunda genetik faktörlerin yanı sıra yaş, immün sistem özellikleri, beslenme düzeni, sigara, alkol kullanımı alışkanlığı ve maruz kalınan kanserojenler de kanser oluşumunda etkilidirler (Wagner vd., 2015). Kanserden hayatını kaybeden insanların dörtte birinin altmış beş yaş üstünde olduğu görülmektedir (Tecen, 2016). İlerleyen yaş ile bağışıklık sisteminde bazı

yetersizlikler ve hücresel bazda moleküler değışikler meydana gelir. Vücutta meydana gelen bu değışikler hücrelerin karsinojenlere karşı hassasiyetini olumsuz etkiler. Ayrıca karsinogenez süreci yıllarca devam eden bir süreçtir, ilerleyen yaşlarda kanserin görülme olasılığının daha fazla olmasının bir nedeni de budur (Leach vd., 2016).

Genler kromozomlar üzerinde belirli yerlerde ve belirli bir sıralamaya uygun olarak bulunurlar. Genlerin hasar alması durumunda meydana gelen değışimler hücresel aktiviteyi olumsuz etkiler. Genlerin işlevlerinin eski haline dönüştürülebilmesi için DNA tamir mekanizması devreye girer ancak bu tamir süreci sonucunda her zaman başarıya ulaşılamaz. İlgili hasarlı genin kodladığı proteinde hata ya da eksiklik meydana gelir. Hücrede hasarlı genler tarafından kodlanan hatalı proteinler sonucunda hücrenin işlevlerinde aksaklıklar gözlemlenebilir (Fitzmaurice vd., 2015).

Kanser oluşumu ve kanserin engellenmesinde etkili olan genler arasında üç gen grubu dikkat çeker. Bu genler onkogenler, DNA tamir genleri ve tümörü baskılayıcı genlerdir. Proto-onkogenler normal şartlarda hücrenin büyümesi ve farklılaşmasında rol alırlar. Mutasyonlar, genlerde meydana gelen duplikasyon ya da kromozomlardaki çeşitli düzenlemelerle artan gen ifadesi sonucunda proto-onkogenler onkogenlere dönüşebilirler. Tümör baskılayıcı genler ise kanser oluşumunun engellenmesinde önemli role sahiptir. TP53 geni hücrenin bölünmesini kontrol etmesinin yanı sıra DNA tamirini tetikleme ve bu tamir işleminin başarısız olması durumunda hücreyi apoptoza sevk etmesi gibi önemli görevlere sahiptir. Bu sebeple tümör baskılayıcı gen ailesinin önemli üyelerinden birisidir (Erdem, 2009). Nokta mutasyonları, silinmeler, kromozomların birbirlerinden doğru şekilde ayrılmaması, mitotik rekombinasyonlar ya da epigenetik susturmalar neticesinde tümör baskılayıcı genlerin işlevleri olumsuz yönde değışebilir bunun sonucunda hücre döngüsü doğru bir şekilde kontrol edilemez ve karsinogenez meydana gelir (Hanahan ve Weinberg, 2011).

DNA tamir genleri, hasarlı DNA'nın hasarını tamir etmek için kullanılacak olan gerekli proteinleri ilgili bölgeye çeken ve böylece genin işlevinin kazanılmasını sağlayan genlerdir. DNA tamir genleri, tamir süreci başarılı olamazsa normal fonksiyonlarını sürdürememekte olan hücreyi apoptoza sevk eder. Bu genlerde meydana gelen bir hasar karsinogenezin önemli sebeplerindendir. BRCA geninde meydana gelen değışiklik sonucunda oluşan meme kanseri bu tip genlerin hasar alması sonucu oluşabilecek kanser vakalarına bir örnektir (Wagner vd., 2015).

Genlerde meydana gelen değişikliklerin kanser oluşumu üzerindeki etkisi araştırılmakla birlikte etkili olabilecek başka unsurlar da araştırılmaktadır. Tütün veya alkol kullanımı, sağlıklı beslenme, aşırı kilolu olmak, bazı virüsler, iyonize edici ışınlar, mesleki hastalıklar ve çevresel kirlenmeler kanser oluşumunda etkilidir. Hepatit B, Hepatit C ve HPV (Human Papilloma Virus) gibi virüsler de karsinogeneizde etkili olan virüslerdendir (Blackadar, 2016).

Kanser tedavisinde kemoterapi mevcut kanser hücrelerini yok etmek ya da gelişimlerini kontrol altına almak için uygulanan bir tedavi yöntemidir. Sinyal ileti inhibitörleri: Tirozin kinaz inhibitörleri, sitokinler, monoklonal antikorlar ise hedefe yönelik kanser tedavisinin örneklerindendir. Bu tip tedaviler kanser hücrelerini yok ederken sağlıklı hücelere daha az zarar vermektedirler (Clem vd., 2016). Kanser tedavisi günümüzden yaklaşık yetmiş yıl öncesine kadar temelde cerrahi kemoterapi ve radyoterapi üzerine kurulu halde idi. 2018 yılında bağışıklık sisteminin kanserli hücelere etkili bir şekilde saldırabilmesini mümkün kılan immün kontrol noktası inhibitörlerinin keşfi, T hücreleri tarafından düşman olarak algılanmayan kanser hücrelerini bağışıklık sistemi tarafından algılanabilir hale getirmektedir bu sayede kanser tedavine yeni bir alternatif kazandırılmış durumdadır.

Hedefe yönelik tedaviler 4 ana başlık altında toplanır:

- a. Stokinler
- b. Aşılar
- c. Uyarıcı molekülleri önleyenler: Monoklonal antikorlar
- d. Sinyal ileti inhibitörleri: Tirozin kinaz inhibitörleri (Clem ve ark., 2016).

Sitokinler vücutta biyolojik görevleri olan proteinlerdir, bağışıklık sistemindeki farklı hücreler tarafından üretilirler. Temel işlevleri lenfositlerin büyüme farklılaşması, hematopoetik hücrelerin gelişimi ve antijenlerin eliminasyonu süreçlerinde görev almalarıdır. (Tecen, 2016).

Aşılar ise neoplastik hücelere karşı hücrel sitotoksiteyi uyarırlar. Böylece kansere karşı bağışıklık sistemini uyarılmış olur, kanser oluşumunu, ilerlemesini ve yayılmasını engellenir (Tecen, 2016). Monoklonal antikorlar belirli bir epitopa (antijenin antikora ve B hücrelerine bağlanan kısmı) bağlanma özelliği gösteren antikor topluluklarıdır. Tümör hücrelerinin bölünme ya da anjiyogeneiz sırasında kullandıkları biyolojik yollara inhibe ederler ya da

bağıışıklık sisteminin daha fazla immünolojik yanıt vermesini sağlayarak kanser tedavisinde etkin olurlar (Henricks vd., 2015).

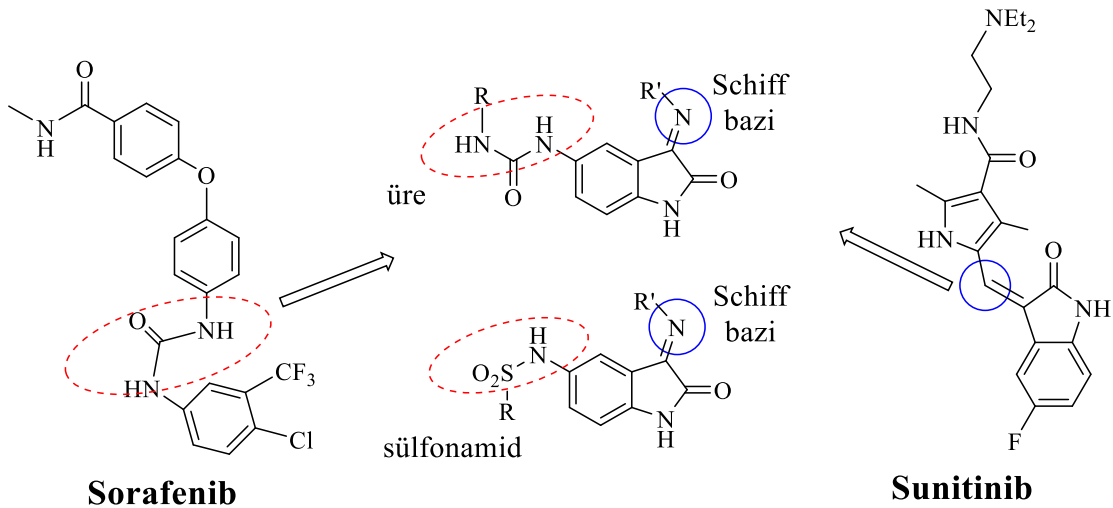
Tirozin kinazlar sağılıklı bir insan hücrelerinde sinyal iletimini sağılayan enzim ailesindendir. Tirozin kinazlar sağılıklı bir fizyoloji için gereklidirler ancak fonksiyonlarının bozulması anormal hücre aktivitelere sebep olur. Başta kanser olmak üzere immünolojik, nörolojik, metabolik ve enfeksiyon hastalıklarına da sebebiyet verirler. Tirozin Kinaz inhibitörleri protein fosforilasyonunu engelleyerek hücre döngüsünü durdurur, tümör hücrelerinin apoptozuna sebep olur. Bu etki mekanizmaları sebebiyle kanser tedavisinde kullanılırlar (Hong vd., 2014). 2000’li yılların başlarında geliştirilen Gleevec (imatinib), Sprycel (dasatinib), Iressa (gefitinib), Tarveca (erlotinib), Tykerb (lapatinib) ve Nexavar (sorafenib) gibi küçük molekül yapısına sahip Tirozin Kinaz inhibitörleri sayesinde kanser tedavisinde başarılı sonuçlar alınmıştır. Tirozin Kinaz inhibitörlerinin kanser tedavisinde kullanılmasına yönelik çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Geleneksel kanser tedavileri belirli makromolekülleri ya da enzimleri hedef alır ancak kemik iliğı, gastrointestinal hücreler gibi hızla bölünen hücreler ve tümör hücreleri arasında etkin olarak seçicilik gösteremediklerinden toksik yan etkileri vardır. Hücre sinyal iletimi tümör hücrelerinde de hücrenin büyüme ve gelişme sürecine dahildir. Bu biyolojik yolları etkileyerek tümör hücrelerine karşı yüksek seçicilik gösteren hedeflendirilmiş tedavi yöntemleri geniş terapötik etki ve düşük toksisite ile tedavi imkânı sağlamaktadırlar (Alberts vd., 2008).

Hedeflendirilmiş ve geleneksel tedavilerin birlikte kullanılması kanserin tedavisinde daha başarılı bir yaklaşımdır. Bu sebeple hedeflendirilmiş tedaviler daha ümit verici bir yöntem olarak değerlendirilirler. Günümüzde hedeflendirilmiş kanser tedavisinde kullanılan Protein tirozin kinaz (PTK) inhibitörü olarak tasarlanmış ve FDA tarafından onaylanmış birçok inhibitör ve klinik çalışmaları devam eden pek çok molekül bulunmaktadır. Bu bileşiklerle hastaların tedavisi ve yaşam kalitelerinin artışında olumlu sonuçlar alınması protein tirozin kinazları yeni ilaç çalışmalarında temel hedef haline getirmiştir (Korfee vd., 2004).

Bu tez kapsamında, tümör büyümesini ve anjiyogenezi kontrol eden sinyal yollarında görevli sitoplazmik ve reseptör protein kinazların küçük moleküllu inhibitörleri olan sorafenib ve sunitinib’den (Kim vd., 2009) esinlenilerek kimyasal yapıları açısından benzerlikler taşıyan 16 adet üre veya sülfonamid fonksiyonel grupları barındıran isatin halkasının üçüncü konumundan Schiff bazlarının tasarlanması, sentezlenmesi, yapılarının

aydınlatılması ve antikanser aktivitelerinin ilk göstergesi olarak kabul edilebilecek olan sitotoksisite testleri ile antikanser özelliklerinin HepG2, PC-3, A549, SH-SY5Y hücre hatlarına karşı test edilmesi amaçlanmaktadır. Bununla birlikte biyolojik aktiviteleri ile bağlanma afiniteleri arasındaki ilişkinin Autodock 4.2 programı kullanılarak değerlendirilmesi ve bileşiklerin ilaca benzer özellikler taşıyıp taşımadıklarının ADME tahmin verilerine göre belirlenmesinin gerçekleştirilmesi de amaçlarımız arasındadır.

Sonuç bileşikleri tasarlanırken esinlenilen ilaçlar olan sorafenib ve sunitinib, biyokimyasal kinaz tarama testlerinde, anjiyogeneze rol oynayan vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü VEGFR-1, VEGFR-2 ve VEGFR-3'ün ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörlerinin (PDGFR'ler) güçlü birer inhibitörü olarak tanımlanmışlardır (Kim vd., 2009). Sonuç bileşiklerinin antikanser aktivitelerinin ilk göstergesi olarak kabul edilebilecek olan sitotoksisite testlerinde kullanılan HepG2 hepatosellüler karsinom, PC-3 prostat kanseri, A549 küçük hücreli dışı akciğer kanseri, SH-SY5Y ise nöroblastoma hücre hatlarıdır. Hepatosellüler karsinom tedavisinde VEGFR1-3, FGFR1-4 ve PDGFR'nin çok hedefli inhibitörleri, prostat kanseri tedavisinde Src tirozin kinaz kompleksi olarak anılan Src/Etk/FAK'ın üçlü non-reseptör tirozin kinaz inhibitörleri, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde EGFR inhibitörleri, nöroblastoma tedavisinde reseptör tirozin kinazlardan, ALK, TRKA,B,C ve ROS1 inhibitörleri etkilidir.



Şekil 1.1: Sonuç bileşiklerinin tasarım stratejileri.

Bu tez kapsamında tasarlanmış yeni 16 bileşiğinin özellikle sorafenibe benzer olarak, üre grubu taşımları ya da üre biyoizosteri olarak bilinen sülfonamid grubu taşımları nedeniyle

sorafenib gibi VEGFR1-3 ve PDGFR inhibitörü özellikleri sergilemeleri hedeflenmiştir. İlgili bileşiklerin VEGFR1–3, FGFR1–4 ve PDGFR inhibitörlerinin tedavide etkili olduğu bilinen hepatosellüler karsinom hücre hattında daha etkili olmaları beklenmektedir.

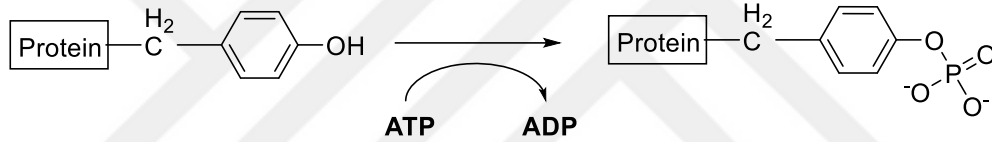


2. GENEL BİLGİLER

2.1. PROTEİN TİROZİN KİNAZLAR

Protein tirozin kinazlar ATP molekülünde, gama konumundaki fosfat grubunu katalizleyeceği proteinin tirozin amino asidinin fenolik hidroksil gurubuna transfer eden enzim grubudur. PTK'lar vasıtası ile fosfatlanma gerçekleşirken aynı anda fosfatlanmış bir başka protein de fosfotazlar tarafından hidroliz edilir. Fosfatlama mekanizması ile aktifleşen enzimlerde defosfatlama mekanizması ile enzim aktivasyonu son bulur (Roskoski, 2005).

Protein tirozin kinazlar hücrelerin çoğalması, farklılaşması, taşınması ve apoptozisi gibi hücrel biyolojik olayların gerçekleştirilmesinde görev alırlar (Carmi vd., 2012). Protein tirozin kinazlar, kendi içinde reseptör tirozin kinazlar (RTK) ve sitoplazmik tirozin kinazlar (non-reseptör tirozin kinazlar, NRTK) olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

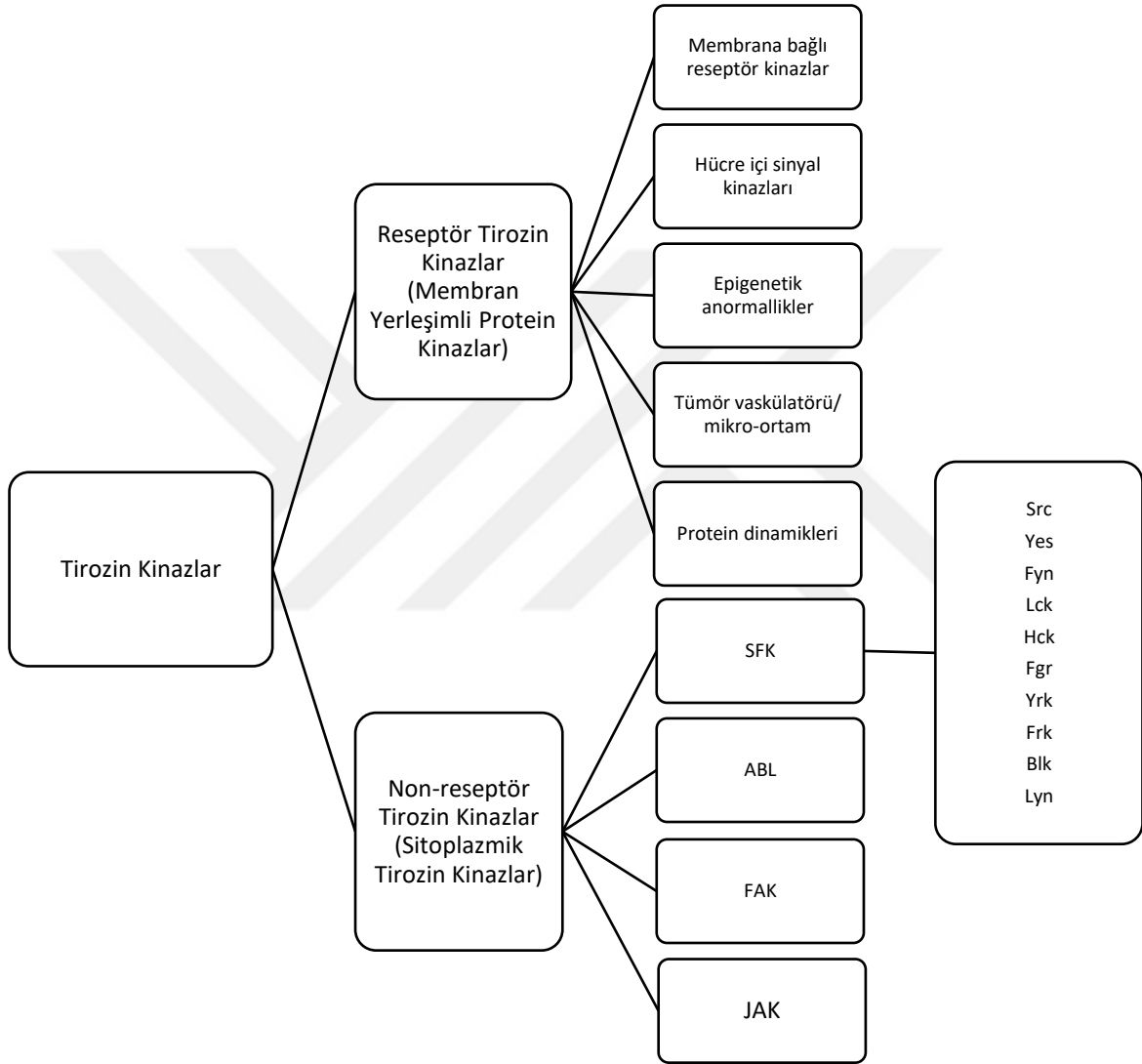


Şekil 2.1: Proteinlerdeki tirozin amino asitinin protein tirozin kinazlar tarafından fosfatlanması.

Membrana bağlı reseptör kinazlar (c-mezenkimal-epitelyal geçiş / hepatosit büyüme faktörü, İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü ve İnsülin Büyüme Faktörü Reseptör Yolları), hücre içi sinyal kinazları (Src, PI3K / Akt / mTOR ve Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz Yolları), epigenetik anormallikler (DNA metiltransferaz ve histon deasetilaz), protein dinamikleri (Isı Şok Proteini 90, Ubikitin-Proteazom Sistemi) ve tümör vaskülatürü veya mikro-ortam (Anjiyogenez, Hipoksiye Bağlı Faktör, Endotel, Integrin) olarak tümör anormallerini oluşturan spesifik hedefler olarak sınıflandırılmışlardır (Ölgen ve Şentürk, 2021). Reseptör tirozin kinazlar, hücre-hücre iletişimine rol oynayan sinyal aktarım yollarının temel bileşenleridir. Polipeptid ligandları bağlayabilen ve özellikle büyüme faktörlerinin de yer aldığı tek geçişli biyolojik membranın tamamını kat eden (transmembran) reseptörler; hücrenin büyüme, farklılaşma ve metabolizasyonu gibi süreçlerde önemli roller oynamaktadırlar (Hubbard ve Miller, 2007).

Sitoplazmik reseptör kinazlar kendi içinde Src kinaz ailesi (SFKs), Abl, fokal adezyon kinazı (FAK) ve janus kinaz (JAK)'lar dört ana grupta sınıflandırılırlar. SFK'lar bu grubun en

büyük üyesidir ve kendi içinde Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Hck, Fgr, Yrk, Frk ve Blk olmak üzere 10 üyeden oluşmaktadır (Şekil 2.2). SFK ailesinin üyeleri proliferasyon, farklılaşma, göç, adezyon, anjiyogenez, istila ve bağışıklık gibi fonksiyonların düzenlenmesinde görevlidirler (Taylor ve Shalloway, 1996; Frame, 2004; Sicheri ve Kuriyan, 1997; Yeatman, 2004).



Şekil 2.2: Tirozin kinazların sınıflandırılması (Ölgen ve Şentürk, 2021).

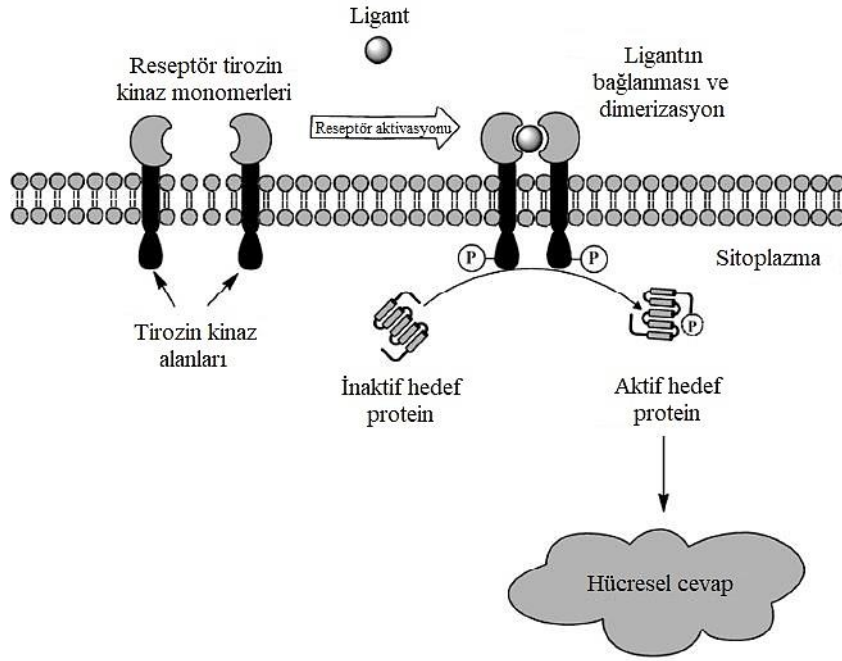
2.2. RESEPTÖR TİROZİN KİNAZLAR

Reseptör tirozin kinazlar hücre dışı sinyalleri hücre içine iletmektedir hücrel farklılaşma ve çoğalmada etkili olan proteinlerdir. RTK'lar hücre zarına yerleşik halde bulunan

proteinlerdir. Toplamda tanımlanmış 58 RTK kendi içinde 20 alt gruba ayrılır (Pawson, 2002). İnsülin reseptörü, efrin reseptörleri (EphA, EphB) epidermal büyüme faktörü (EGF, epidermal growth factor), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF, vascular endothelial growth factor) trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF, platelet-derived growth factor) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF, fibroblast growth factor) gibi büyüme faktörlerinin reseptörleri bu reseptörler arasında yer alır (Kılıç, 2008: 9; Doğan ve Güç, 2004).

Reseptör tirozin kinazların yapısında 3 bölge mevcuttur.

- Ekstraselüler bölge (Hücre dışı bölge)
- Transmembran bölge (Zar içinde kalan bölge)
- Sitoplazmik tirozin kinaz bölgesi (Aktivasyondan sorumlu)



Şekil 2.3: Reseptör tirozin kinazların genel yapısı. (Paccez vd., 2014).

İlgili büyüme faktörü (VEGF, PDGF gibi) ekstraselüler bölgeye bağlanmasıyla reseptör tirozin kinazlar aktif hale geçerler. Aktivasyon safhasından sonra sitoplazmik tirozin kinaz bölgesi fosforilize olur. Fosfatlanan bölgeye hücre içi sinyal iletiminde görevli proteinlerin bağlanması sayesinde çeşitli sinyal iletim yolları aktif hale gelmiş olur. Bu sayede hücre dışındaki sinyal hücre içine iletilmiş ve hücre çekirdeğine kadar taşınmış olur (Paul ve Mukhopadhyay, 2004).

2.2.1.Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)

VEGF patolojik ya da fizyolojik anjiyogenezi düzenleyen faktörlerden birisidir (Mazitschek ve Giannis, 2004). Ayrıca damar geçirgenliğini artıran bir etken olarak da tanımlanmıştır. Trombolitik ve pıhtılaşma yollarında görev alan bileşiklerin salınımında da etkilidir (Konukoğlu ve Turhan, 2005). VEGF-A, B, C, D, E ve plasenta büyüme faktörü olmak üzere çeşitleri olan VEGF proteinleri birçok memelide tanımlanmıştır. Bu proteinlerin VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (Flk-1/KDR), VEGFR-3 (Flt-4) adlı üç reseptörü mevcuttur.

- a. VEGFR-1 vasküler endotelyumda, kan hücrelerinde. Makrofajlarda, monositlerde mevcuttur. Endotel hücre göçünde etkindir.
- b. VEGFR-2 vasküler ve lenfatik endotelyumda mevcuttur. Hücre çoğalması ve geçirgenliğinde etkindir.
- c. VEGFR-3 genellikle lenfatik endotelyumda mevcuttur. Lenfoid anjiyogeneizde etkindir. (Mazitschek ve Giannis, 2004).

VEGF proteinlerinin kendilerine özgü reseptörlerine bağlanmasıyla, VEGF reseptör tirozin kinazların intraselüler (Aktivasyondan sorumlu sitoplazmik tirozin kinaz bölgesi) tirozin kinaz bölgesinin fosforilasyonu gerçekleşir ve VEGF reseptör tirozin kinaz aktive olur. Bu sayede hücre içi sinyal iletim yolağı aktive edilmiş olur. VEGFR tirozin kinazlar tümör, romatoid artrit, retinada damarlanma ve kalp damar hastalıkları gibi bazı fizyopatolojik durumlarda önemli rol oynamaktadırlar (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

2.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Epidermal Growth Factor, EGF)

Epidermal büyüme faktörü reseptör tirozin kinazlar keşfedilen ilk reseptör tirozin ailesidir kinaz ailesidir. EGF (epidermal büyüme faktörü) tarafından uyarılırlar. EGF polipeptid yapısında anjiyogenezi uyaran faktörlerdendir ve birçok dokuda tespit edilmiştir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

ErbB1 (HER1 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü)), ErbB2 (HER2), ErbB3 (HER3), ErbB4 (HER4) olmak üzere dört alt gruba ayrılır. ErbB1, ErbB2, ErbB4 tip reseptörler aktif tirozin kinaz bölgesine sahiptir ancak ErbB3 reseptörünün kinaz bölgesi inaktif durumdadır.

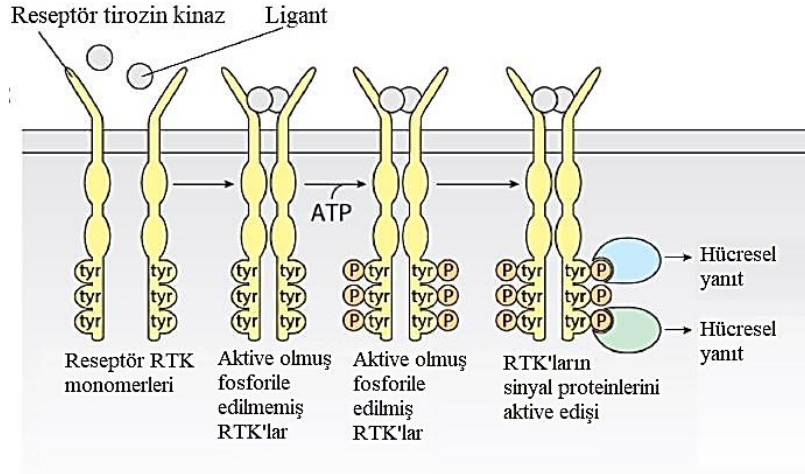
ErbB3 inaktif olmasına rağmen, diğer EGF reseptörlerini aktive edebilme yeteneğine sahiptir (San Juan, 2008). Tümör hücre motilitesi, işgali, metastazı ve hatta apoptozisin inhibisyonu gibi çeşitli neoplastik süreçlerin düzenlenmesinde EGF reseptör tirozin kinazlar rol almaktadır. EGF reseptör tirozin kinazlar vasıtasıyla gerçekleşen sinyal iletim mekanizmasının bozulması göğüs, akciğer, over ve böbrek kanserlerine neden olabilmektedir (Arora ve Scholar, 2005).

2.2.3. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinazlar (Platelet-Derived Growth Factor, PDGF)

Trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin, PDGF-A, B, C, D olmak üzere dört türü vardır. PDGF trombositlerin içinde bulunur (Konukoğlu ve Turhan, 2005). Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü reseptörünün α ve β olmak üzere iki türü mevcuttur ve hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması gibi hücreyel olayları düzenlerler (Reinmuth vd., 2004). Reseptör α PDGF-A ve B'ye daha kolay bağlanırken, β reseptör sadece PDGF-B'ye bağlanabilir (Gabrielli vd., 2007) PDGF reseptörünün α ve β türlerin katı tümörlerde aşırı salındığı tespit edilmiştir (Arora ve Scholar, 2005).

2.2.4. Reseptör Tirozin Kinazların Aktivasyonu

Reseptör tirozin kinazlar, inaktif durumda monomerik ve defosforile durumdadırlar, tirozin kinaz bölgeleri aktif değildir. VEGF, PDGF, EGF gibi sinyal proteinlerinin RTK'ların ekstraselüler bölgedeki ligand bağlayıcı kısma bağlanmasıyla monomer yapılar birleşerek dimerleşir. Ardından dimer hale geçmiş olan RTK'nın tirozin kinaz bölgesindeki tirozin aminoasiti fosforilize olur ve aktivasyon gerçekleşir. Fosfatlanan bölgeye sitoplazmadaki sinyal iletimci moleküllerin bağlanmasıyla çeşitli sinyal iletim yolları tetiklenmiş olur. Bu mekanizma sayesinde hücre dışındaki sinyal hücre içine aktarılmış olur. Hücre içine aktarılan sinyal, hücre içinde gerekli organelde karşılık bulur ve sinyal iletimi devam eder (Krause ve Van Etten, 2005).

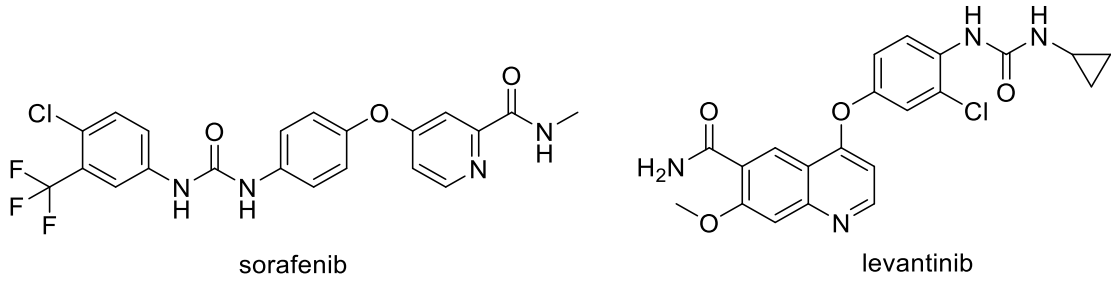


Şekil 2.4: Reseptör tirozin kinazın aktivasyonu (Jo vd., 2009).

2.2.5. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Hepatosellüler Karsinom ilişkisi

Hepatosellüler karsinom (HCC), dünya çapında en yaygın malign tümörlerden biridir. HCC, tüm birincil karaciğer kanseri vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturur ve dünya çapında kansere bağlı ölümlerin dördüncü sıradaki nedeni olduğu tahmin edilmektedir. HCC hastalarının çoğu, klinik tanı sürecinde radikal bir tedavi olanağı olmaksızın lokal veya metastatik hastalıklara sahiptir. Çok hedefli tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ'ler) sorafenib, ileri HCC tedavisi için onaylanan ilk ilaçtır ve hastalarda ömrü 7,9 aydan 10,7 aya kadar uzattığı görülmüştür (Zhao vd., 2020). Yaşam süresindeki bu küçük farka rağmen sorafenib, HCC tedavisinde hala bir atılım olarak kabul edilmektedir. Lenvatinib, (VEGFR)1–3, (FGFR)1–4, (PDGFR) baskılayan çok hedefli bir inhibitördür. Klinik öncesi çalışmalar, lenvatinibin, esas olarak VEGF ve FGF (fibroblast büyüme faktörü) sinyal yollarının inhibisyonu yoluyla güçlü antianjiyogenik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Zhao vd., 2020). Lenvatinib, VEGFR yolunu bloke ederek renal hücre karsinomu, pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, meme kanseri, farklılaşmış tiroid kanseri ve anaplastik tiroid kanseri gibi çeşitli kanser türlerini baskılar (Zhao vd., 2020).

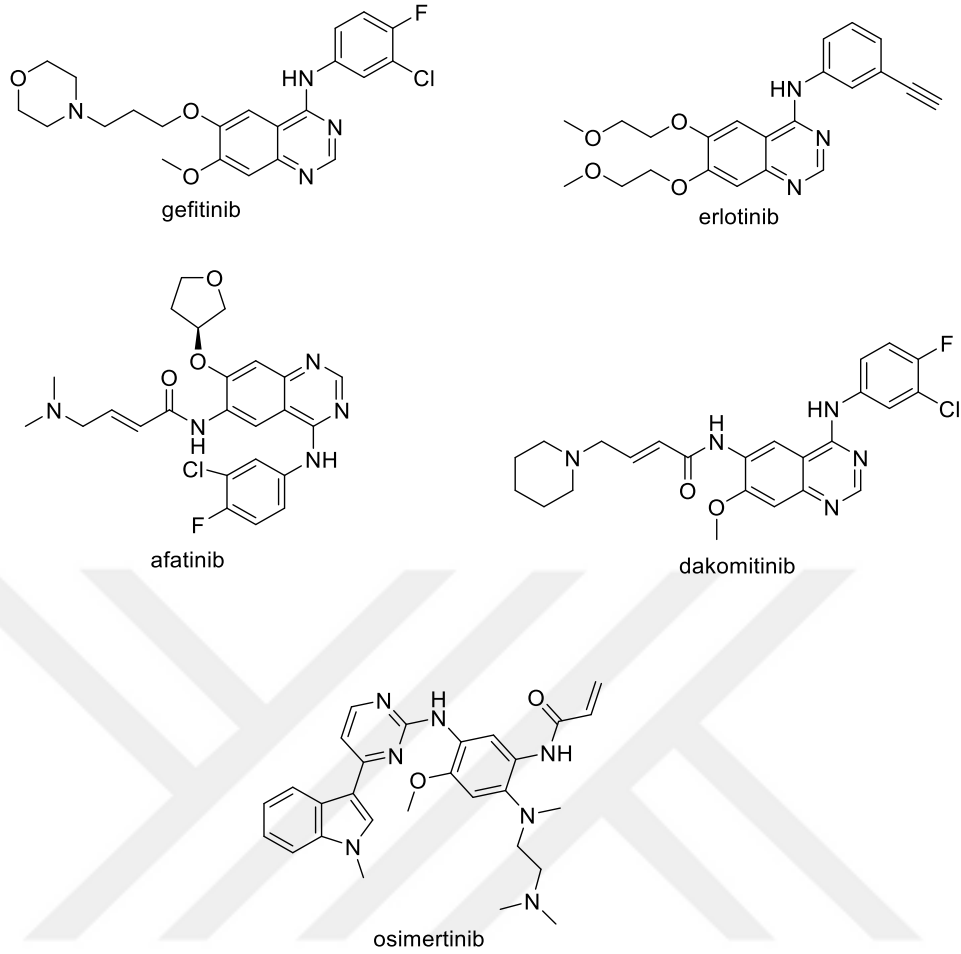
Hepatosellüler karsinom için sistemik tedavi, esas olarak çok hedefli kinaz inhibitörlerine dayanır. Birinci basamak tedavide sorafenib (VEGFR, PDGFR) veya lenvatinib (VEGFR, FGFR, PDGFR'yi hedefleyen) önerilirken, cabozantinib, regorafenib (VEGFR, FGFR ve PDGFR) veya ikinci basamakta immünoterapi kullanılabilir (Pottier vd., 2020).



Şekil 2.5: Sorafenib ve lenvatinibin kimyasal yapıları.

2.2.6. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İlişkisi

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde reseptör tirozin kinaz inhibitörlerinin (RTKİ'ler) kullanımı, ATP bağlama bölgelerinin (gefitinib ve erlotinib) birinci nesil tersinir EGFR inhibitörleriyle yapılan klinik çalışmalarda rapor edilmiştir. Kemoterapi ile karşılaştırıldığında, bu tedavilerin hasta ömrünü yaklaşık olarak %50 (23.6 aydan 30.5 aya) artırdığı görülmüştür (Planchard vd., 2018). İkinci nesil RTKİ'ler, EGFR kinaz alanına daha fazla afinitesi olan geri dönüşümsüz inhibitörlerden (afatinib ve dakomitinib) oluşur. Afatinib, kemoterapiye kıyasla hasta ömrünü yaklaşık olarak iki katına (6,9 aydan 11,1 aya) çıkarır (Sequist vd., 2013). Klinik çalışmalar, dakomitinib ile gefitinib karşılaştırıldığında hasta ömrünü uzattığı (26.8 aydan 34.1 aya) görülmüştür (Wu vd., 2017). Cilt tahrişi veya cilt ülseri, gastrointestinal toksisite (ishal, kabızlık, şiddetli mide bulantısı ve kusma) dahil olmak üzere yan etkiler afatinib ve dakomitinib kullanımında daha sıklıkla şiddetli şekilde görülmüştür. Bu ilaçlara karşı en yaygın direnç mekanizması, EGFR kinaz alanının ikincil mutasyonudur. Bu nedenle, üçüncü nesil EGFR-TKİ, osimertinib, mutasyona uğramış reseptörler için daha fazla afiniteye sahip olacak şekilde tasarlanmıştır. Osimertinib, birinci nesil EGFR RTKİ'leri ile karşılaştırıldığında, ilerlemesiz yaşam süresini (10.2 aydan 18.9 aya) önemli ölçüde artırmıştır (Planchard vd., 2018; Morgillo vd., 2016; Hochmair vd., 2019). Ayrıca birçok klinik çalışma, yeni kombinasyon tedavilerini araştırmaktadır. Örneğin, devam eden bazı klinik araştırmalar, birinci nesil EGFR RTKI (gefitinib) ile osimertinib kombinasyonunu birinci basamak tedavi olarak araştırmaktadır (Janne, 2021; Pottier vd., 2020).

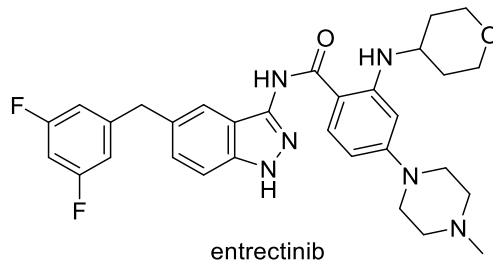


Şekil 2.6: Gefitinib, erlotinib, afatinib, dakomitinib ve osimertinib'in kimyasal yapıları.

2.2.7. Reseptör Tirozin Kinazlar ve Nöroblastoma İlişkisi

Reseptör tirozin kinazlar, kanser hücrelerinin büyümesi ve gelişiminde yer alan birçok hücrel sinyal sürecinde önemli roller oynarlar. ALK, TRKA,B,C ve ROS1, onkogenez ile ilgili yolakta yer alan RTK'lardır. ALK, insülin reseptörü üst ailesindeki bir RTK'dır ve kromozom 2'de bulunur. TRK proteinleri, TRKA, TRKB ve TRKC, onkogenezde yer alan başka bir RTK sınıfıdır. ROS1, henüz bilinmeyen bir liganda sahip bir RTK'dır ve bu nedenle işlevi hakkındaki bilgileri sınırlıdır. Bu protein, esas olarak epitel hücrelerinde eksprese edilir ve böbrek, beyincik, mide ve bağırsak dahil olmak üzere çeşitli dokularda bulunur (Acquaviva ve Charest, 2009; Pacenta ve Macy, 2018). Bu proteinler, malignitelerde genetik olarak değişebilir, bu da reseptör aktivasyonuna ve ilgili yolakta sinyalleşmeye yol açar. Nöroblastoma (NB) çocukluk çağında en sık görülen ekstrasaniyal (kafatası dışında) solid tümördür ve tedaviye rağmen yüksek riskli hastalık durumundadır, ölüm oranı

yüksektir (Pacenta ve Macy, 2018). Adrenal medullada veya sempatik zincir boyunca nöral krest hücrelerinden kaynaklanan kök hücrelerde gelişir (Pizzo ve Poplack, 1993). Birkaç ALK veya TRKA/B/C inhibitörü, nöroblastoma tedavisinde hem klinik öncesi hem de klinik olarak değerlendirilmiştir. Bu ajanların başarısı değişkendir ve NB tedavisinde rutin olarak kullanılmazlar. Entrectinib, yetişkinlerde Faz I klinik testlerde ALK, NTRK1, NTRK2, NTRK3 ve ROS1 değişiklikleri olan tümörlere karşı aktiviteye sahip bir pan-ALK, TRKA, TRKB, TRKC ve ROS1 inhibitörüdür (Pacenta ve Macy, 2018). Entrectinib'in hem ALK hem de TRK proteinlerine karşı aktivitesi, Nöroblastoma tedavisinde olası bir rolü olduğunu düşündürmektedir ve şu anda hem pediatrik hem de yetişkin onkoloji hastalarında araştırılmaktadır (Pacenta ve Macy, 2018). Entrectinib'in etkinliği, TRK, ALK ve ROS1 hedeflerine özeldir. 200'den fazla tümör hücre hattının in vitro proliferasyon profili, entrectinib'in antiproliferatif etkisinin, yalnızca entrectinib'e özgü RTK hedeflerine bağlı hücre hatlarıyla sınırlı olduğunu ortaya koymuştur (Ardini vd., 2016). Nöroblastomada aktive edilebilecek yolları güçlü bir şekilde inhibe etme yeteneği, entrectinib'in daha önce nöroblastoma için değerlendirilen diğer inhibitörlere (crizotinib, ceritinib, alectinib, lorlatinib, lestaurtinib, larotrectinib) kıyasla daha iyi etkinliğe sahip olabileceğini düşündürmektedir (Pacenta ve Macy, 2018).

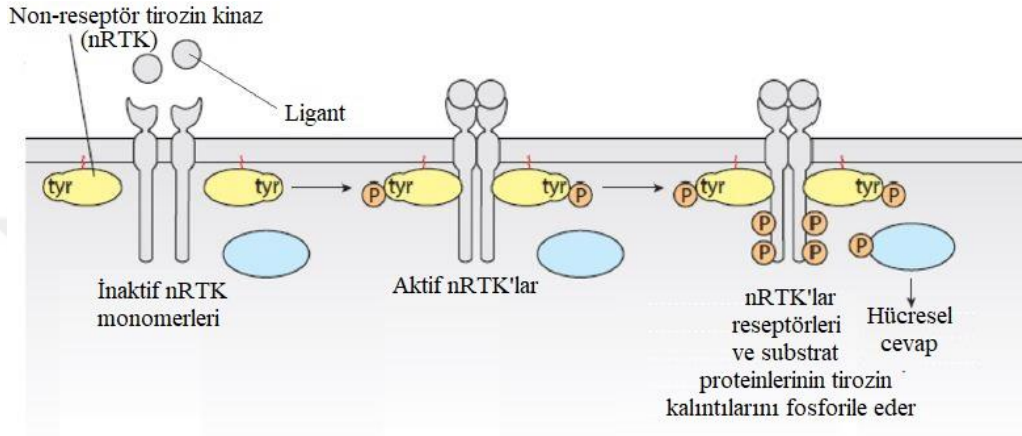


Şekil 2.7: Entrectinibin kimyasal yapısı.

2.3. SİTOPLAZMİK TİROZİN KİNAZLAR

Sitoplazmik tirozin kinazlar sitoplazma, çekirdek, plazma membranında bulunurlar ve reseptör tirozin kinazlar tarafından hücre dışından alınan sinyallerin hücre içinde sitoplazmaya dağılmasını sağlarlar. İnsan genomunda tanımlanmış 32 non-reseptör tirozin kinaz mevcuttur. Non-reseptör tirozin kinazlar yapısal farklılıklarına göz önünde bulundurularak 10 alt gruba ayrılmıştır (Madhusudan ve Ganesan, 2004). Bu on alt grup arasında en çok bilinenler Sarcoma tirozin kinaz (Src), Abelson tirozin kinaz (Abl), Fokal

adezyon kinazı (Fak), Janus family kinaz (Jak) proteinleridir. Bu grubun en büyük üyesi olan SFK'lar (Src family kinase) c-Src, Yes, Fyn, Lyn, Lck, Hck, Fgr, Yrk, Frk ve Blk olmak üzere 10 üyeden oluşmaktadır (Ölgen ve Şentürk, 2021). Bu proteinler, sitozolde ve çekirdekte çeşitli hedef proteinleri fosforilleyerek reseptörden gelen sinyalleri çekirdeğe iletirler. Çoğalma ve farklılaşma ile ilgili sinyalleri taşıyarak, hücrenin yaşamsal faaliyetlerinde görev alırlar.



Şekil 2.8: Non-reseptör tirozin kinazların genel yapısı (Jo vd., 2009).

Sitoplazmik tirozin kinazlar SH-2, SH-3 ve tirozin kinaz bölgesi olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. SH-2 ve SH-3 bölgeleri protein-protein etkileşimlerinde görevlidirler. Reseptörün aktivasyonu ise tirozin kinaz bölgesinde gerçekleşmektedir. Büyüme faktörleriyle uyarılmamış hücrelerde bu proteinler sitoplazmada inaktif halde beklemektedirler. Hücrelerin uyarılması söz konusu olduğunda aktif hale geçen proteinler, sitoplazmadaki ya da çekirdekdeki hedeflerine yönelirler.

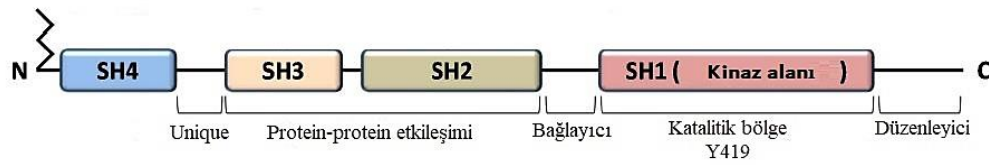
Sağlıklı bir hücrede bu proteinler bölünme, farklılaşma, yayılma gibi hücrelerel sinyal iletim yollarında görev alırken, sürekli aktivasyon sonucu kanser gelişimine ve metastazına neden olmaktadır (Kumar vd., 2011)

2.3.1. SFK Non-Reseptör Tirozin Kinazlar

Src ailesi kinazlar (Src family kinase, SFK) non-reseptör tirozin kinazlardandır, hücrede büyüme, farklılaşma, motilite, kanser oluşumu ve immün fonksiyonlar gibi çeşitli hücrelerel düzenlemelerde görev alırlar. Src tirozin kinazların birçok biyolojik olayı düzenlemedeki rolü, bu enzimlerin birçok reseptörü etkimesine bağlıdır (Hu ve Minshall, 2008).

Src, karakterize edilen ilk tirozin kinazdır olma özelliğindedir. SFK'lar, plazma zarı, perinükleer zar, endozomal membranda ve sitoplazmada bulunur. c-Src, Fyn, Yes ve Yrk birçok hücre tipinde yaygın olarak yer alır (Hu ve Minshall, 2008).

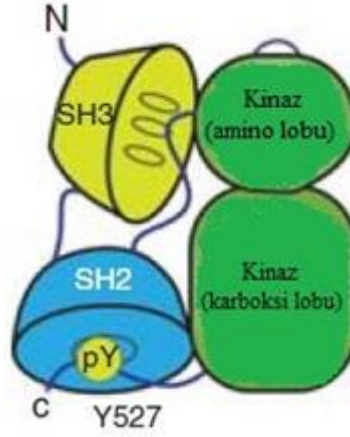
SFK'lar 52-62 kDa'luk enzimlerdir ve 7 farklı fonksiyonel bölgeden oluşurlar (Ingley, 2008; Ischenko, 2007). Bu bölgeler; NH₂-ucu, SH3 Bölgesi (Src homolog bölge-3), SH3-SH2 bağlayıcı bölge, SH2 Bölgesi (Src homolog bölge-2), SH2-kinaz bağlayıcı bölge, Kinaz Bölgesi, Karboksil ucudur (C-ucu).



Şekil 2.9: Src ailesi kinazların bölgeleri (Bagnato, 2020).

NH₂ ucu, SFK'ların hücre membranına tutunmasını bölgedir. Bu bölge SFK aile üyelerinde farklılık gösterir ve diğer proteinlerle etkileşimlere aracılık eder. SH-2 ve SH-3 bölgeleri, protein-protein etkileşimlerinden sorumludurlar. SH-2 bölgesi fosfotirozinlere bağlanır, SH-3 bölgesi ise polipiriline tip II yapısı ile etkileşime girer. SH-3-SH-2 bağlayıcı bölge SH-2 ve SH-3 bölgeleri birbirlerine bağlar. Kinaz bölgesi (SH-1), tirozin kinaz aktivitesinden sorumlu olan bölgedir fosforilasyonun bu bölgede gerçekleşir. Kinaz bölgesi, PPII bağlayıcı bölge ile SH-2 bölgesine bağlıdır. Kinaz bölgesinde fosforilasyona uğrayabilen iki farklı yer vardır. Bu bölgeler birisi kinaz bölgesinin ortasındadır Tirozin 416 (Tyr 416) diğeri karboksil ucunun yanında bulunur Tirozin 527 (Tyr 527) (Hu ve Minshall, 2008).

Tyr 416 otofosforilasyona uğrayabilmektedir. Tyr 527 ise, karboksi-uç src kinaz ve karboksi uç homoloji kinaz non reseptör tirozin kinazlar tarafından fosforillenirken; Src homoloji-2 bölgesi içeren fosfotaz-1 (Src homolog 2 domain containing phosphatase 1, SHP-1), Src homoloji-2 bölgesi içeren fosfotaz-2 (Src homolog 2 domain containing phosphatase 2, SHP-2) ya da protein tirozin fosfotaz-1 (protein tyrosine phosphatase, PTP1) tarafından defosforilasyona uğrayabilmektedir.



Şekil 2.10: Src tirozin kinaz'ın yapısı (Wagner, 2013).

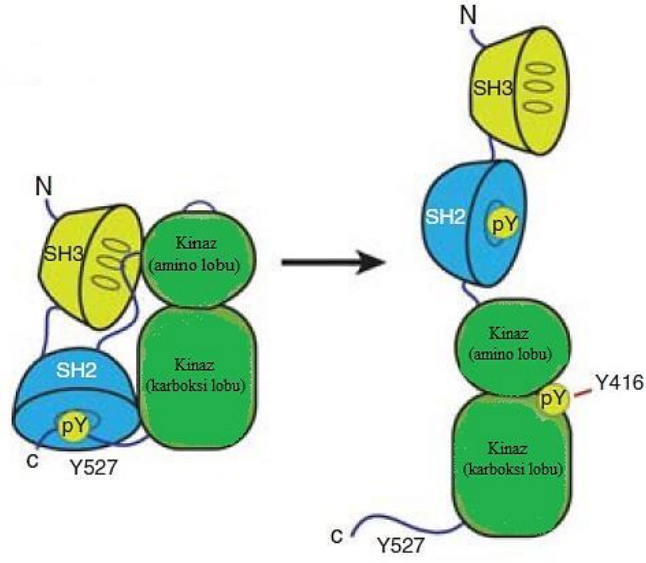
Her iki fosforilasyon bölgesi de Src tirozin kinaz enzim ailesinin aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Kılıç, 2008: 15; Hu ve Minshall, 2008).

Tyr 416 otofosforilasyona uğrayabilirken, Tyr 527 karboksi-uç src kinaz ve karboksi uç homoloji kinaz non-reseptör tirozin kinazlar tarafından fosforillenebilir. Src homoloji-2 bölgesi içeren fosfotaz-1, Src homoloji-2 bölgesi içeren fosfotaz-2 veya protein tirozin fosfotaz-1 vasıtasıyla defosforilasyona uğrayabilir. Src tirozin kinaz enzim ailesinin aktivitelerinde her iki fosforilasyon bölgesi de önemli rol oynamaktadır (Hu ve Minshall, 2008).

2.3.2. Src Non-Reseptör Tirozin Kinazların Aktivasyonu

Src tirozin kinazlar inaktif halden aktif hale geçebilmesi için fosforilasyon durumlarını değiştirmelidirler. Tyr 527 fosforilasyona uğradığında Src tirozin kinaz inaktiftir. Ancak, Tyr 527 defosforilasyona, Tyr 416'da fosforilasyona uğradığında Src tirozin kinazlar aktifleşirler (Belsches-Jablonski vd 2005).

Src tirozin kinazlar inaktif durumdayken, fosfotirozin 527 (pY527) SH-2 bölgesine ve SH-2 kinaz bölgesi de SH-3 bölgesine bağlanmış şekildedir (Chong vd., 2005). SH2 bölgesine bağlanabilen sitoplazma içerisindeki ligant güçlü bir seçicilikle SH2 bölgesine bağlandığında fosfatlanmış Tyr527 SH2 bölgesinden ayrılır.



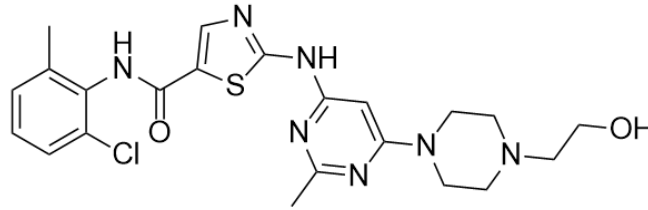
Şekil 2.11: Src tirozin kinaz aktivasyonu (Wagner, 2013).

SH3 bölgesine bağlanabilen sitoplazma içerisindeki ligant SH3 bölgesine bağlandığında SH2 bölgesi ile SH3 bölgesinin etkileşmesi bozulur. Moleküller arası etkileşimin bozulmasıyla Src tirozin kinazlar tamamen aktif hale geçmiş olurlar (Martin, 2001; Wheeler vd., 2009; Lieu ve Kopetz, 2010).

2.3.3. Sitoplazmik Tirozin Kinazlar ve Prostat Kanseri İlişkisi

Prostat kanseri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Neredeyse tüm prostat kanserine özgü ölümler, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserinin (mCRPC) gelişmesinden sonra meydana gelir. Tirozin kinazlar, tümör ilerlemesinde ve terapi direncinde önemli roller oynar (Markowitz ve Fancher, 2018; Kung, 2011). Tirozin kinaz inhibitörleri, hedefe yönelik tedavinin ön saflarında yer alır. Prostat kanseri için, tirozin kinazlar, şu anda tedaviye cevap vermeyen prostat kansinogenezinin en rahatsız edici yönü olan kastrasyona dirençli hastalık durumunun gelişmesinde rol oynamaktadır. Tipik bir prostat kanseri hücresinde 30 kadar tirozin kinaz rastlanmıştır. Bunların çoğu sinyalleri, Src tirozin kinaz kompleksi olarak anılan Src/Etk/FAK'ın üçlü non-reseptör tirozin kinazlar aracılığıyla yönlendirir. Bu kompleksin, büyüme faktörlerinin aracılık ettiği androjen reseptörünün (AR) anormal aktivasyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Kung, 2011). Src kinaz kompleksi, androjen reseptörünü fosforile etme yeteneğine sahiptir, bu da nükleer translokasyona ve ligandsız androjen reseptörünün stabilizasyonuna neden olur. Prostat kanserinin büyümesi ve metastazında tirozin kinazların rol oynadığına dair güçlü

kanıtlar vardır. TK'lar ayrıca radyasyona ve kimyasal kaynaklı apoptoza karşı tümör duyarlılığında kilit rol oynar. CaP hücrelerinin kapsamlı profillerine dayanarak, prostat kanseri hücrelerinde yaklaşık olarak 30 ila 40 tirozin kinazın eksprese edildiğini bulunmuştur (Robinson vd., 1996). LNCap'te yaklaşık 22 reseptör kinaz (ErbB1, ErbB2, ErbB3, EphA1, EphB1, EphB2, EphB3, EphB4, Sky, Mer, Ddr1, Ddr2, PDGFRB, FGFR2, FGFR3, FGFR4, IGFR, MET, RON, RET, TrkA, VGFR) ve 14 reseptör olmayan tirozin kinazlar (SRC, FYN, YES, LYN, BRK, FER, CSK, ETK, ABL, ARG, JAK1, TYK2, FAK, PYK2) tanımlanmıştır (Kung, 2011). Src ailesi kinaz inhibitörlerinin CaP hücre dizileri ve ksenograftlar üzerindeki etkilerine ilişkin nispeten az sayıda çalışma yapılmıştır. Klinik olarak onaylanmış bir tiyazol ve pirimidin bazlı inhibitör olan dasatinib, düşük nanomolarda Src ve Lyn TK'yı inhibe eder ve DU145'in hücre adezyonunu, istilasını ve göçünü etkili bir şekilde bastırır (Nam vd., 2005; Kung, 2011).



Şekil 2.12: Dasatinibin kimyasal yapısı.

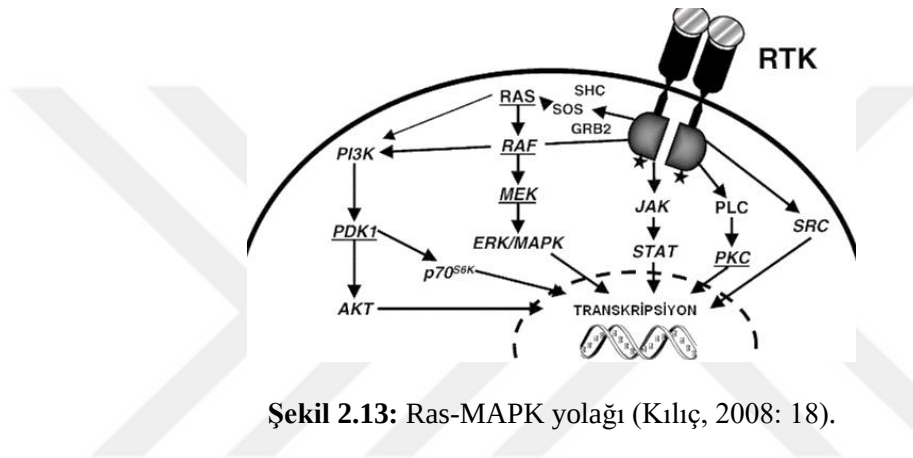
2.4. TİROZİN KİNAZLARIN HÜCRE İÇİ SİNYAL İLETİMİNDEKİ ROLÜ

Tirozin Kinazların aktivasyonu birçok sitoplazmik sinyal iletim mekanizmasını tetikler. Hücre içi mediyatörler aracılığı ile membran reseptörler sayesinde hücre zarının dışından alınan sinyaller önce sitoplazmaya oradan çekirdeğe kadar taşınırlar. Bu sayde hücre dışı sinyaller hücre içine iletilmiş olurlar. İlgili sinyaller sayesinde hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, hücre büyümesi ve hücre ölümü gibi biyolojik süreçler için ilgili DNA sentezi gerçekleştirilir (Arora ve Scholar, 2005).

Büyüme faktörlerinin reseptörleri etkilemesiyle tetiklenen Ras-Mitojen aktive edici protein kinaz reseptör tirozin kinazlardan en önemlisidir (Ras-Mitogen Activated Protein Kinase, Ras-MAPK) (Reinmuth vd., 2004). Bu sinyal iletim yolağında EGF, PDGF gibi büyüme faktörleri reseptör tirozin kinazlara bağlanır ardından dimerizasyon ve sitoplazmik kinaz bölgesinde tirozin fosforilasyonu gerçekleşir. Sonrasında bir dizi reaksiyonla hücre dışı sinyal düzenleyen kinaz olarak bilinen ERK (extracellular signal regulated protein kinase)

yolağını aktive edilmiş olur (Doğan ve Güç, 2004). Aktive edilmiş olan ERK mitojenik sinyal üretecek olan çekirdeğe yerleşir ve transkripsiyon faktörlerini fosforiller. Bu sayede hücre bölünmesi için gerekli olan genlerin aktivasyonu gerçekleştirilmiş olur (Buolamwini, 1999).

İnsan tümörlerinin %30'unda bu yolağın aşırı aktivasyonu rol oynamaktadır. ERK'nın aktivasyonu için bu yolda görevli olan Ras proteinlerinin mutasyonu sonucu Ras proteinleri aktif Ras-GTP halinde kalabilirler ve hücrelerin kontrolsüz şekilde uyarılmalarına sebebiyet verebilirler (Doğan ve Güç, 2004).



Şekil 2.13: Ras-MAPK yolağı (Kılıç, 2008: 18).

Reseptör Tirozin Kinazların vasıtası ile aktive olan bir başka sinyal iletim yolu da fosfoinositid-3-kinaz (PI-3K) yoludur. Bu yolaktaki aksaklıklar hücrenin büyümesini, çoğalmasını, farklılaşmasını olumsuz olarak etkiler. Akciğer kansinomalarında fosfoinositid-3-kinaz sentezinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu yolda fosfatidilinozitol-4,5-difosfat'ı (PIP2), PI-3K tarafından fosforillenir ve fosfatidilinozitol trifosfat (PIP3) oluşur. Sonrasında PIP3'e bağlı kinazlar (PIP3-dependent kinase, PDK) olan p70 ribozomal protein 6 kinaz (p70 ribosomal protein 6 kinase, p70s6k) ve protein kinaz B aktive olarak sinyali hücre çekirdeğine taşırlar. (Reinmuth vd., 2004).

Reseptör tirozin kinazların sinyal iletim yollarında non-reseptör tirozin kinazlar da görev alırlar. Aktive olmuş olan reseptör tirozin kinazlara non-reseptör tirozin kinazlar SH-2 bölgelerinden bağlanırlar. Bu şekilde aktive olan non-reseptör tirozin kinazlar hücre içi sinyal iletim ve yapan proteinleri (Signal transducer and activator of transcription, STAT) aktive ederler (Frame, 2002). Sonrasında aktive olmuş olan STAT proteinleri hücre çekirdeğinde DNA'daki hedef genlerin transkripsiyonunu tetiklerler (Doğan ve Güç, 2004).

İntegrinler hücre zarında bulunan adezyon reseptörlerdir ve non-reseptör tirozin kinazları büyüme faktörlerinin yanı sıra aktive edebilirler. İntegrinler uygun agoniste bağlandığı takdirde fokal adezyon kinazının (FAK) integrinle etkileşir ve fosforilizasyon gerçekleşir. Sorasında fosforillenmiş olan tirozine Src SH-2 bölgesinden bağlanır ve Src aktive edilmiş olur. PI-3K da FAK üzerindeki fosfotirozinlerle bağ yaparak aktive olabilir ve hücrenin yaşamı için gerekli olan sinyalleri çekirdeğe iletme görevini gerçekleştirebilir (Köksoy, 2002).

2.5. PROTEİN TİROZİN KİNAZLARIN ONKOJENİK AKTİVASYONU

Hücrede tirozin kinaz fosforilizasyonun miktarı tirozin fosfatazlarla kontrol altında tutulurlar. Mutasyonlar, genomik düzenlemeler gibi etkilerle bu kontrol mekanizmasında bir aksaklık olması durumunda tirozin Kinazlar hücrelerin onkojenik transformasyonunda çok önemli bir etken haline gelirler (Paul ve Mukhopadhyay, 2004).

EGFR III tirozin kinazın ekstraselüler bölgedeki mutasyonları sonucunda ligand yokluğunda hücre çoğalmasının gerçekleşmesine ve glioblastoma, over tümörleri ve küçük hücreli olmayan akciğer karsinomalarında meydana gelmesine sebep olabilir. FGFR-3 tirozin kinazın ekstraselüler bölgede meydana gelen nokta mutasyonları olağan dışı dimerizasyonuna sebebiyet verebilir ve çoklu miyelomaya neden olur. Mesane ve servikal karsinomaları ise EGFR-2 ve -3 tirozin kinazın somatik mutasyonları sonucunda meydana gelebilir (Paul ve Mukhopadhyay, 2004). Src tirozin kinazın C-ucunda meydana gelen kısalma ise proteinin aktif halde kalmasına sebep olur ve onkojenik potansiyel oluşturur (Doğan ve Güç, 2004). t(9;22) translokasyonu onkojenik aktivasyona sebep olan genomik düzenlemelerdendir ve 22. kromozomdaki BCR geni ile 9. kromozomdaki ABL tirozin kinaz geninin birleşmesi ile BCR-Abl (Break point cluster region-Abelson murine leukemia, BCR-Abl) proteinlerinin oluşmasına sebep olur. Sürekli kinaz aktivitesine sahip ve hücre çoğalması, apoptozis ve adezyon ile ilgili kontrolsüz sinyal iletimlerine neden olabilen iki tip protein tirozin kinaz oluşur p190 (BCR-Abl) ve p210 (BCR-Abl) (Arora ve Scholar, 2005; Doğan ve Güç, 2004). BCR-Abl tirozin kinaz, myeloid lösemili vakalarının %95'inde akut lenfoblastik lösemili vakalarının %15-30'unda gözlemlenir (Arora ve Scholar, 2005).

Protein tirozin kinaz sentezinin normalden fazla olması da onkojenik aktivasyonda etkilidir (Doğan ve Güç, 2004). Over, baş, boyun, yemek borusu, mide, kolorektal, ve endometrial

kanser türleri EGFR'nin normalden fazla sentezlenmesiyle görülür. Göğüs kanseri, prostat, akciğer ve kemik ve over, kanserlerinde ise ErbB2 sentezinin fazlalaştığı gözlemlenmiştir (Madhusudan ve Ganesan, 2004).

Tirozin kinaz aktivitesinde artış, fosfataz aktivitesinde azalma ya da tirozin kinaz inhibitör proteinlerin sentezinin azalması gibi durumlarda gözlenir. Normal olmayan tirozin kinaz aktivitesi, kanserli hücrelerin yaşamının, çoğalmasının ve sitotoksik ilaç direncinin, anjiyogenez ve metastatik potansiyelin armasına sebep olabilir (Krause ve Van Etten, 2005).

2.6. TÜMÖR OLUŞUMUNDA ANJİYOGENEZİN ROLÜ

Anjiyogenez yeni kan damarlarının mevcut damarlardan oluşması demektir. Anjiyogenez doğal bir süreçtir ancak bazı durumlarda patolojik de olabilir. Anjiyogenez embriyogenez, yaraların iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde de gözlenir ve bu tip anjiyogenez fizyolojik anjiyogenez olarak bilinir. Patolojik durumlara örnek olarak da artrit, bazı inflamatuvar hastalıklar, çeşitli kanserler ve bazı göz hastalıkları verilebilir. Anjiyogenezin yetersizliği durumunda da periferik arter hastalıkları ve gecikmiş yara iyileşmesi görülebilir (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Tümörde anjiyogenez yeni kan damarlarının kanser oluşumunun içine nüfus ederek oksijen ve besin gereksimini karşılarken atık maddelerin uzaklaştırılmasını da sağlar. Bu durumun gerçekleşmesi için tümör hücreleri çevre dokulara sinyal yayan moleküller salgırlar. İlgili sinyaller çevre dokularda yeni kan damarlarının oluşmasına neden olur (Papetti ve Herman, 2002).

Pro-anjiyogenik faktörlerden VEGF, FGF, PDGF ve IL-8 (interlökin-8) antianjiyogenik faktörlerden angiostatin, endostatin, trombospondin, maspin bu süreçte rol oynarlar (Dhanabal vd., 2005). 0,5 mm³'ten daha küçük tümörler besin ve oksijeni difüzyonla sağlayabilirler ancak tümör büyüklüğü 0,5 mm³'ün üstüne çıkınca anjiyogenez ile gerekli oksijen ve besin sağlanmalıdır. Tümörün anjiyogenez yapabilmesi için anjiyogenez inhibitörlerinin azalması ve bir ya da birden fazla anjiyogenik büyüme faktörünün artış göstermesi gerekmektedir. Anjiyogenezin bir diğer etkisi de metastaz olasılığını artırmasıdır. Tümör hücresinin metastaz yapabilmesi için damara girebilmesi ve damar içinde canlılığını sürdürebilmesi gerekmektedir bu durum ise anjiyogenezle mümkün

olabilmektedir (Gridelli vd., 2006). Bu olgunun anlaşılması kanser tedavisindeki gelişmeleri artırmış ve yeni yaklaşımlara imkân vermiştir.

2.7. TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ

Tirozin kinaz inhibitörleri Kinazların katalizlediği tirozin fosforilizasyonunu engel olarak bu yolağın işleyişini durdurur. Hücrenin apoptozuna sebep olurlar bu etkileri sayesinde kanser tedavisinde kullanılırlar (Norman vd., 2012). Tirozin kinazlar hakkında yoğun araştırmalar yürütülmektedir. Src inhibitörleri de gerek akademide gerekse endüstride sıklıkla araştırma konusu olmaktadır (Lu ve vd., 2012).

Src inhibitörleri, Src enziminin temel işlevlerini, aktivitesine ve hedef moleküllerle etkileşime girme yeteneğine bağlı olarak üç ana başlık altında toplanabilirler (Wadhawan vd., 2011; Ungefroren vd., 2011).

- a. Tirozin Kinaz inhibitörleri
- b. Protein-protein etkileşim inhibitörleri
- c. Enzim stabilizasyonunu bozucular

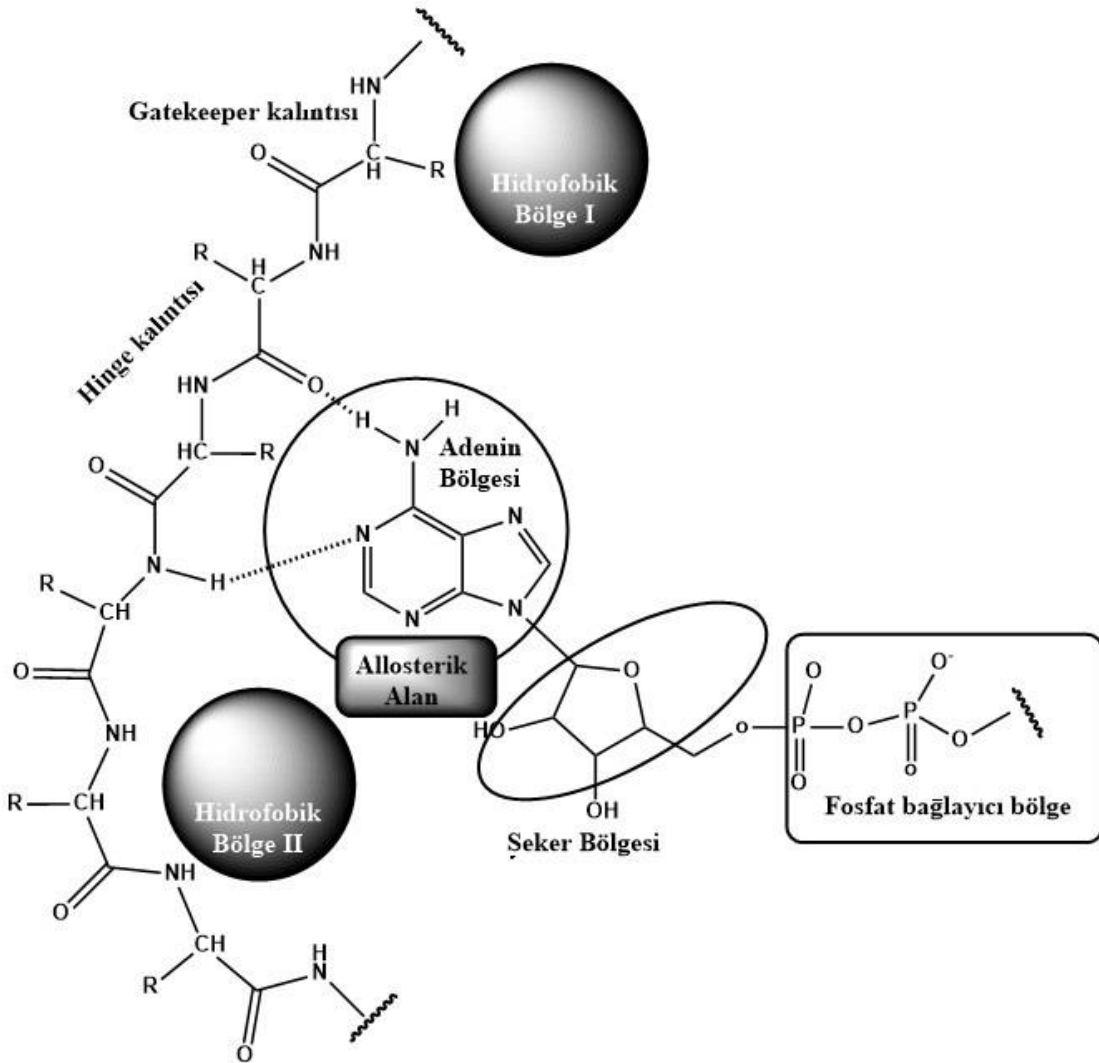
Preklinik ve klinik çalışmalardan elde edilen veriler kanser hastalarının tedavisinde Src inhibitörlerinin kullanılmasının yararlı olduğu örüşünü desteklemeye devam etmektedirler. Bununla birlikte yapılan çalışmalar vakalarda yalnızca Src inhibitörlerinin kullanılması durumunda sınırlı klinik fayda getireceği doğrultusundadır. Klinikde daha anlamlı sonuçlar elde edilebilmesi için kinaz inhibitörlerinin yanı sıra setuksimab, oksaliptatin gibi sitotoksik kemoterapötik ajanlarla kombine tedavi yöntemlerinin uygulanmasının yararlı olacağına dair kanı hakimdir. Normalden fazla aktive olmuş SFK'lar kontrolsüz proliferasyona ve sonrasında kansere sebep olabilir. Src hedefli kanser tedavisinde proliferasyonu önlemek temel amaçtır bu sebeple çeşitli çeşitli bileşikler geliştirilmiştir (Lu vd., 2012).

2.8. TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ TASARIM STRATEJİLERİ

Önceleri klinikte kullanılan Tirozin Kinaz inhibitörlerinin çoğu ATP aktif bölgesine bağlanabilecek biçimde tasarlanmışlardı. Seçici inhibitörler tasarlayabilmek adına bu bölgeyi hedeflemek avantajlıydı. Çeşitli kimyasal gruplar ATP bağlanma bölgesine seçici olarak bağlanmak adına tasarlanmışlardır ve ATP bölgesine inhibitörlerin bağlanması için önemli roller üstlenmektedirler (Cao vd., 2008).

İnhibitörler genellikle iki ya da daha fazla hidrojen bağı yapabilen aromatik ya da alifatik gruplar içerirler (Zhang vd., 2009). Kinaz inhibitörleri bağlanma türlerine göre 1,2,3 ve 4 şeklinde ifade edilen dört gruba ayrılırlar.

Tip 1 Kinaz inhibitörleri ATP-kompetitif inhibitörlerin temel grubunu oluşturur. İnsan vücudundaki Kinazların ATP bağlanma cebinin yapısı iyi bilinmektedir (Ölgen ve Şentürk, 2021). 7 İlgili yapının iyi bilinmesi sebebiyle ATP cebini hedefleyen inhibitörlerin tasarlanması daha kolaydır (Yan vd., 2013).



Şekil 2.14: Tirozin kinaz inhibitörlerinin etkileştiği enzim yoresi (Ölgen ve Şentürk, 2021).

Tip 1 inhibitörler adeninin ekzosiklik amino grubu ile kinazın menteşe bölgesi arasında yapıya bağlı olarak bir ila üç hidrojen bağı yapabilirler. Tip 1 inhibitörlerinin işgal ettikleri bölge kendi içinde alt gruplar şeklinde değerlendirilebilir. Bu bölgeler Hidrofobik bölge 1,

Hidrofobik bölge 2, Adenin bölgesi, Riboz bölgesi ve fosfat bağlanma bölgesi olarak adlandırılırlar. (Liu ve Gray, 2006). Bu bölgeler çoğu kinaz inhibitörünün tasarımında kullanılmaktadırlar. Tasarlanan birleşiklerde yapıya ek olarak konumlandırılan hidrofobik gruplar ATP bağlanma bölgesine tutunmaya yardımcı olabilir. Kinaz enziminin aktif bölgesinde AspPheGly (DFG) düğümü bulunmaktadır (Dietrich vd., 2010). Kinaz enziminin aktif ya da inaktif olmasını fenilalaninin yapısındaki fenil grubunun pozisyonu belirlemektedir. DFG düğümündeki aspartat aktif konformasyonda görevlidir. Aspartatın C-N etrafında dönebilen fenil halkası ise inaktif konformasyona geçişte görevlidir.

Tip 2 inhibitörleri kinazın inaktif konformasyonundaki ATP bağlanma bölgesi ile etkileşime girerler. Bu konformasyondaki ATP bağlanma cebinin yanındaki bölgeyle etkileşim kurarlar. Bu etkileşimler bileşiklerin inaktif konformasyona karşı seçicilik özelliklerini olumlu yönde etkilerler. Tip 2 kinaz inhibitörleri genel olarak Tip 1 inhibitörlerden daha etkilidirler (Manley vd., 2005). Tip 2 inhibitörleri ATP cebinin yanında allosterik bölge olarak adlandırılan hidrofobik bir cebe yerleşme yeteneğine sahiptirler. Tip 2 inhibitörlerinin kristal yapıları incelendiklerinde benzer farmakofor yapıya sahip oldukları ve benzer hidrojen bağları yaptıkları gözlemlenmiştir. İmitanib ve Sorafenib gibi Tip 2 türdeki kinaz inhibitörleri allosterik bölgeye bağlanırlar (Soverini vd., 2012). İmitanib üzerinde yapılan modifikasyonlar sayesinde fenilamino primidin yapısındaki bileşiklerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Tip 2 reseptörlerinin tümü üre ya da amid grubu barındırırlar ve bu gruplar sayesinde hidrojen bağı donör-akseptör çiftleri oluştururlar. Hidrofobik kuyruk kısımları ise allosterik bölge ile etkileşime girmekten sorumludur. Ana gruba sahip Tip 2 inhibitörleri kinazın adenin bölgesine uzanarak menteşe bölgesindeki amino asitlerle hidrojen bağı oluştururlar ancak ana bölümün bağlanma afinitesi diğer bölgelere göre daha düşüktür. Tip 2 inhibitörlerinin ikinci jenerasyonu ise mevcut ilaçların potansini artırma çalışmalarının ürünüdür. İkinci jenerasyonun Abl'nin imatinibe karşı olan dirençle baş edebildikleri görülmüştür (Azam vd., 2003).

Tip 3 inhibitörler nonkompetitif ATP inhibitörleri olarak da bilinirler ATP cebinden uzaktaki allosterik bölgeye bağlanırlar. Tip 3 inhibitörler belirli kinaza has bağlanma bölgeleri ve düzenleyici mekanizmalar kullanarak ilgili kinaza karşı maksimum seçicilik gösterirler. Ancak allosterik bölge hakkında az bilgi sahibi olmamız sebebiyle seçici inhibitörler tasarlamak kolay değildir. Ponatinib T315I nokta mutasyonunu bloke edebilen Src / Abl çift

kinaz inhibitörüdür. Ponatinib düşük nanomolar seviyelerde etkisi yakın zamanda ispatlanmış T315l mutasyonlu Bcr-Abl kinazlı CML tedavisi için faz 2 klinik çalışmalarına ulaşabilmiş bir etken maddedir (Price vd., 2013).

Tip 4 türü kinaz inhibitörleri kovalent inhibitörler olarak da bilinirler. Kovalent inhibitörler kinaz aktif bölgesine nükleofilik sistein amino asidi ile geri dönüşümsüz olarak reaksiyona girerek bağlanırlar (Zhang vd., 2009). Src kinaz inhibitörleri ile kombinasyonlu tedavi süreçleri bazı tümör tiplerinin tedavi için araştırılmaktadır. Tip 4 kinaz inhibitörleri ATP bağlanma bölgesinde yer alan sistein amino asidi ile bağ yapabilecek bir elektrofil grubun yapıya eklenmesi vasıtasıyla tasarlanırlar. 4-Anilinokinazolinlerin EGFR ile gerçekleştirdiği etkileşimler incelenerek elektrofil grupların bağlanma bölgesi ile etkileşiminin optimize edilmesine çalışılmaktadır. EGFR ile seçici etkileşim gösterebilen 4-anilinokinazolin ve 4-anilinokinolin-3-karbonitril yapıları kullanılarak etkileşim tahmini yapılmaya çalışılmaktadır.

Src kinazın ATP aktif bölgesi göz önüne alındığında Tip 4 inhibitörlerinin tamamı bölgenin farklı yerlerine bağlanabilirlerken Tip1 kinaz inhibitörleri sadece aktif bölgedeki menteşe yöresi ile etkileşim kurmaktadır. ATP kompetitif etki göz önüne alındığında Tip1 ve Tip 2 inhibitörler ATP kompetitif Tip 3 ve Tip 4 inhibitörler non-kompetitif özellik göstermektedirler. ATP bağlanma bölgesine seçicilik göz önüne alındığında Tip 1 ve Tip 2 inhibitörlerin seçiciliği kıyasla daha düşüktür. ATP'yi tanımak ve fosfotransferazı katalize etmek kolay olmadığı için seçiciliği yüksek Tip 1 inhibitörü tasarlamak kolay değildir. Tip 2 inhibitörlerinin allosterik bölgeyle kurduğu etkileşim ve allosterik bölgenin sağladığı farklılık sayesinde Tip 2 inhibitörleri daha seçicidir. Bütün inhibitör tiplerinin ATP bağlanma bölgesini tanınması gerekmektedir ancak yapıları karşılaştırılırsa bazı farklar olduğu görülür.

Tip 1 inhibitörlerin ATP bağlanma bölgesindeki hidrofobik 1. Ve 2. bölgeye rahatça bağlanabilmesi için hidrofobik grup taşımaları gerekmektedir. Tip 2 inhibitörler ise allosterik bölgeye bağlanabilmek için hidrofobik gruba ihtiyaç duyarlar. Tip 3 inhibitörler inaktif konformasyonda etki gösterebilirler. Tip 4 inhibitörler ise kovalent bağ yapabilmek için elektrofil bir grup taşımak zorundadırlar. Tip 1, 2, 3 ve tip 4 inhibitörlerinin bağlanma özelliklerinin ve yapısal özelliklerinin karşılaştırılması Tablo 2.1'de özet şeklinde verilmiştir.

Tablo 2.1: Tirozi Kinaz İnhibitör Tiplerinin Bağlanma Özelliklerinin ve Yapısal Gerekliliklerinin Karşılaştırılması (Ölgen ve Şentürk, 2021).

	Tip 1 İnhibitörler	Tip 2 inhibitörler	Tip 3 inhibitörler	Tip 4 inhibitörler
<i>Bağlanma Alanı</i>	ATP bölgesi	Atp bölgesi ve allosterik bölge	Allosterik bölge	ATP bağlanma bölgesindeki sistein
<i>Bağlanma bölgesiyle H bağı yapma durumu</i>	Neredeyse tüm inhibitörler için gereklidir	Gerekli değildir ama genelde mevcuttur		Geri dönüşümsüz kovalent bağ yapar
<i>ATP kompetitiflik</i>	ATP kompetitifdir	Dolaylı olarak ATP kompetitifdir	ATP kompetitif değildir	ATP kompetitif değildir
<i>Seçicilik</i>	Genellikle çok seçici değildirler ancak oldukça seçici inhibitörler de bulunmaktadır	Allosterik bölgeye bağlandığından seçicilik konusunda daha avantajlıdır	Yüksek seçiciliğe sahiptir	Genellikle düşük seçiciliğe sahiptirler ancak iyi seçicilik gösteren inhibitörler de rapor edilmiştir
<i>Aktif bölgeye bağlanmak için gerekli yapısal özellikler</i>	Hidrofobik bölge 1 ve 2 ye bağlanmak için ek hidrofobik grup gereklidir, Pürinin bağlanma bölgesine bağlanmak için bir heterosiklik halka gerekir	ATP cebinin yanında ekstra hidrofobik cep oluşturulması gerekir	Allosterik bölgenin inaktif konformasyonuna ihtiyaç vardır	ATP bağlanma bölgesindeki sistein hedefine bağlanmak için elektrofilik grup gereklidir.
<i>İnhibitör tasarımı</i>	İnhibitör tasarlamak göreceli olarak kolaydır ancak seçiciliği yükseltmek zordur	Baş ve kuyruk kısımları vardır. Kuyruk kısmı hidrofobik gruplar içerir. Baş kısmı ATP bağlanma cebinin adenin bölgesiyle ve çevresindeki hidrofobik alanla etkileşime sahiptir.	Yapısal bilginin eksikliğinden dolayı inhibitör tasarlamak zordur.	Bu bileşikler, iyi karakterize edilmiş EGFR seçici 4-anilinokinazolin ve 4-anilinokinolin-3-karbonitril yapı iskeleleri şeklindedir.

2.9. KANSER TEDAVİSİNDE TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRLERİNE KARŞI DİRENÇ GELİŞİMİ

Kanser tedavisinde kullanılan tirozin kinaz inhibitörlerinden günümüzde başarılı sonuçlar alınmaktadır. Tirozin kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesinde ve tedavide kullanılmasında karşılaşılan en büyük problemlerden biri inhibitörlere karşı direnç gelişimidir.

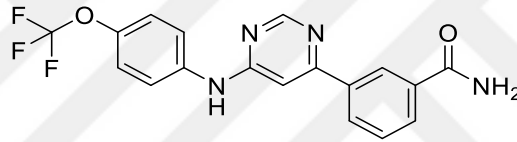
Tirozin kinaz inhibitörlerine karşı direnç gelişiminin nedenleri arasında mutasyonlar, gen kopya sayısı, ifadenme sevisinde değişiklik ve sinyal yolaklarında meydana gelen değişiklikler sayılabilir. Direnç gelişiminde en yaygın ve etkili olan mekanizma kinaz enziminin aktif bölgesinde meydana gelen nokta mutasyonlarıdır. Meydana gelen mutasyonlardan bazıları ATP'nin kinaz enzimine olan afinitisini artırır. Bazı mutasyonlar ise bağlanma bölgesinde yaptığı değişikliklerle inhibitörün kinaza bağlanmasını zorlaştırır (Kılıç Kurt, 2014: 33; Chen ve Fu, 2011).

En sık karşılaşılan mutasyon kaynakli direnç gelişimi İmatinib ve Bcr-Abl kinaz inhibitör enzim ikilisinde görülmektedir. Direnç gelişiminin sebebi Bcr-Abl kinazda meydana gelen mutasyondur. Mutasyona uğramamış Bcr-Abl kinazda İmatinib aktif bölgedeki 315. sıradaki treonin amino asidi ile hidrojen bağı yapar. Mutasyon meydana geldiği durumlarda 315. sıradaki treonin amino asidinin yerine isoleüsin amino asidi geçer (T315I mutasyonu), imatinibin öncesinde yaptığı hidrojen bağı yapılamaz hale gelir ve aktif yöreye yerleşebilmesi karşı sterik engelle karşılaşır. T315I mutasyonu klinik vakaların %60'ında gözlemlenmektedir (Norman vd., 2012). Mutasyon sonucunda aktivitenin gereklerinden birisi olan ilgili hidrojen bağı kurulamaz hale gelir bununla birlikte inhibitör enzime kenetlenme sorunu yaşar bu sebeple ilca karşı direnç gelişmiş olur. Kronik myeloid lösemi tedavisinde bu soruna karşı doz ayarlaması, kombine tedaviler gibi alternatifler kullanılmaktadır (Norman vd., 2012).

Bir diğer direnç gelişimine sebep olan mutasyon ise EGFR tirozin kinazın 790. sıradaki treonin amino asidinin yerine metionin amino asidinin geçmesi sonucu meydana gelen T790M mutasyonudur. Bu mutasyon sonrasında ATP'nin EGFR tirozin kinazına afinitesi artmakta ve gefitinib ve erlotinibe karşı mutasyon kaynaklı direnç gelişmektedir (Cowan-Jacob vd., 2009).

Benzer mutasyon kaynaklı amino asit değişimi sonucu direnç gelişimi FLT-3 kinazda G697R glisin yerine arjinin amino asidinin geçmesi, Src kinazda T341M mutasyonu sonucu treonin yerine metionin amino asidinin geçmesi şeklinde gözlemlenebilmektedir (Blencke vd., 2004; Zhang vd., 2009).

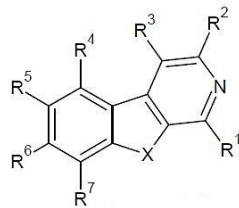
İlaç aktivitesini olumsuz etkileyen ve ilaç direnci meydana getiren bu tip mutasyonların neden olduğu, önceden mi var olduğu ya da tedavi sonucunda mı kazanıldığı halen açıklanamamıştır ve tartışma konusudur. Mutasyon sonucunda ilaç direnci sorununa karşı geliştirilen stratejilerden birisi amino asit değişimlerinde hidrojen bağı yapma potansiyelini koruyabilen moleküller tasarlamaktır. Başka bir yaklaşım da kinazların farklı bağlanma bölgelerini hedefleyen inhibitörler tasarlamaktır. Bcr-Abl-1'in miristat bağlanma bölgesine hedeflenen GNF2 farklı bağlanma bölgelerini hedefleyen inhibitörler tasarlama stratejisinin ürünü olan inhibitörler arasındadır.



Şekil 2.15: GNF2.

2.10. İNDOL HALKASI TAŞIYAN TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ BİLEŞİKLER

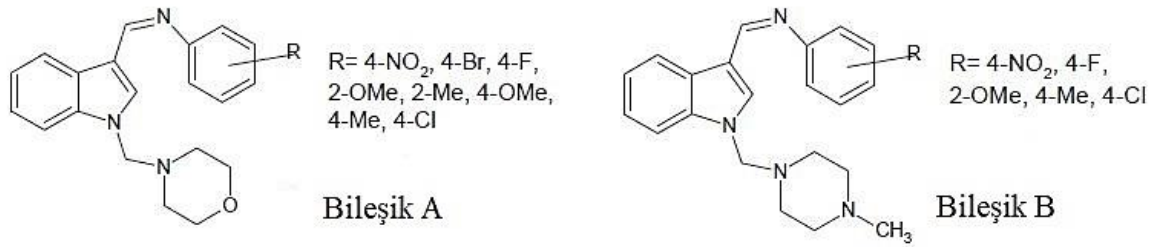
Patil ve arkadaşları, HCT116 kolon, HPAC, MIA PaCa-2 ve Panc-1 pankreas, MCF-7 ve MDA-MB-468 meme, A375 ve WM164 melanom, A549 akciğer ve LNCaP, DU145 ve PC3 prostat kanseri hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktiviteleri için pirido[3,4-b]indol serilerini sentezlemiş ve test etmiştir. Pirido[3,4-b]indollerin, antiproliferatif aktiviteye sergilediği görülmüştür. C1'deki 1-naftil, C6'daki metoksi bileşik-1-naftil-6-metoksi-9H-pirido[3,4-b]indol ile birlikte en iyi antiproliferatif aktiviteyi göstermiştir (Patil vd., 2017; Sachdeva vd., 2020).



R¹= Aril, süstitüe aril, heteroaril
R²= COOEt, R³= Ph,
R⁴= H
R⁵= OCH₃, OCH₂Ph, Cl, Br, CH₂SO₂NHCH₃, OCF₃, CN, H
R⁶= OCH₃, H,
R⁷= CH₃, OCH₃, H
X= NH, NCH₃, O, S

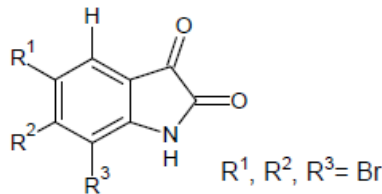
Şekil 2.16: Pirido[3,4-b]indol serisi bileşiklerin genel yapısı (Sachdeva vd., 2020).

Ali ve arkadaşları, misel “nano” indol heterosiklik “anti-kanser bileşikleri” sentezlemiş, sentezlenen moleküllerin DNA bağlanma çalışmaları yapmış ve DNA bağlanma sabitlerini hesaplanmıştır. Geliştirilen nano antikanser aktivite HepG2 (C3A) hücre hatları üzerinde test edilmiştir. 670 µL/mL misel konsantrasyonunda bileşik A (R=NO₂,4-Br, 2-OMe) ve bileşik B’nin R=4-NO₂ HepG2/C3A hattına karşı antikanser aktivite sergilediği gözlenmiştir. (%25-50). Nano taşıyıcıya yüklenmiş (misel içerisine) antikanser ilaçların ilaca benzer özellikler taşıyıp taşımadıkları, Lipinski’nin beş kuralı kullanılarak tahmin edilmiştir. A ve B bileşiklerinin Lipinski’nin beş kuralına uydu görülmüştür (Ali vd., 2018; Sachdeva vd., 2020).



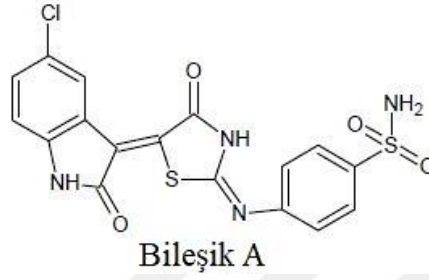
Şekil 2.17: Bileşik A ve bileşik B’nin genel yapısı (Sachdeva vd., 2020).

Vine ve arkadaşları, süstitüe edilmiş 1*H*-indol-2,3-dion türevleri sentezlemiş ve histiositik lenfoma (U937) hücre hattına karşı *in vitro* sitotoksitelerini inceledimşlerdir. SAR çalışmaları, C5, C6 ve C7 süstitüsyonlarının bazı di- ve tri-halojenli isatinlerin aktiviteyi büyük ölçüde arttırdığını göstermiştir (IC₅₀ değerleri <10 µM). Bu bileşikler, meme, prostat ve kolorektal karsinom hücre hatlarından, lösemi ve lenfoma hücrelerine karşı daha fazla seçicilik göstermişlerdir. En aktif bileşik olan 5, 6, 7-tribromoisatin düşük mikromolar konsantrasyonlarda antiproliferatif olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, di- ve tri-süstitüe edilmiş isatinlerin gelecekte antikanser ilaç gelişimi için yararlı yol göstericiler olabileceğini göstermektedir (Vine vd., 2007; Sachdeva vd., 2020).



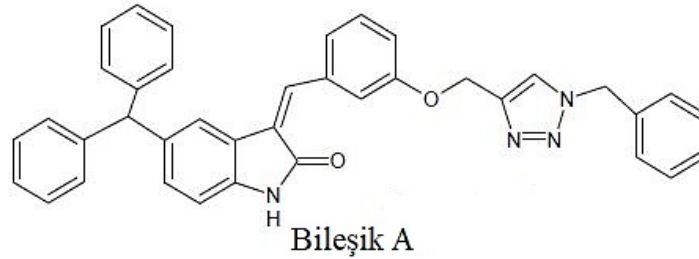
Şekil 2.18: C5, C6 ve C7 süstitüe isatinlerin genel yapısı (Sachdeva vd., 2020).

Eldehna ve arkadaşları, bir dizi 4/3-((4-okso-5-(2-oksoindolin-3-iliden) tiazolidin-2-)iliden) amino)benzensülfonamid türevleri sentezlemiş, meme kanseri MCF-7 ve kolorektal kanser Caco-2 hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitelerini test etmişlerdir. Bileşik A'nın MCF-7'ye karşı en güçlü türev olduğu bulunmuştur ($IC_{50} = 3.96 \pm 0.21 \mu M$) (Eldehna vd., 2017; Sachdeva vd., 2020).



Şekil 2.19: Bileşik A'nın kimyasal yapısı (Sachdeva vd., 2020).

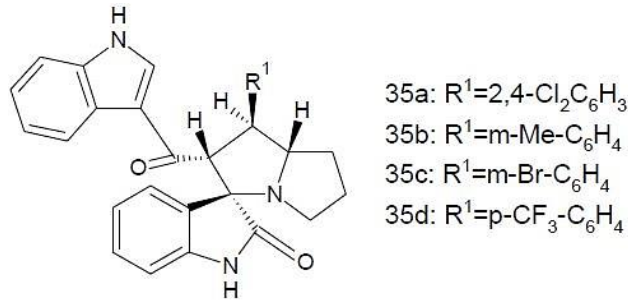
Nagarsenkar ve ark, bir dizi triazol bağlantılı 3-benziliden isatin hibritleri sentezlemiş ve DU145 (prostat), PC-3 (prostat), MDA-MB-231 (meme), BT549 (meme), A549 (akciğer) ve HeLa (servikal) kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bileşik A, DU145 hücrelerinde $IC_{50} 3.7 \pm 0.05 \mu M$ değerine sahip olmuş ve test edilen tüm bileşikler arasında en etkili bileşik olmuştur ve bileşik A'nın DU145 hücrelerinde hücre apoptozunu indükleyebileceği görülmüştür (Nagarsenkar vd., 2016; Sachdeva vd., 2020).



Şekil 2.20: Bileşik A'nın kimyasal yapısı (Sachdeva vd., 2020).

Barakat ve arkadaşları, yüksek diastereoseçicilik ve yüksek verimde (%69-94) biyolojik olarak önemli spirooksindoller sentezlemiş ve sentezlenen bileşikler kolorektal kanser (HCT-116), hepatoselüler karsinom (HepG2) ve prostat kanseri (PC-3) hücreleri kullanılarak sitotoksik testlerine tabi tutmuşlardır. Bileşikler 35b, 35c ve 35d, cisplatinle kıyasla HCT-116 hücrelerine karşı güçlü sitotoksik aktivite ve yüksek seçicilik

göstermişlerdir. Ayrıca bileşik 35a, sisplatine kıyasla HepG2 ve PC-3 hücrelerine karşı yüksek sitotoksik aktivite ve seçicilik göstermiştir (Barakat vd., 2018; Sachdeva vd., 2020).



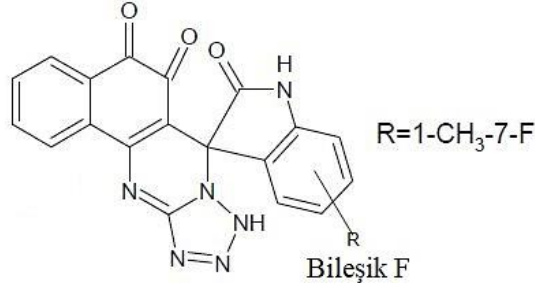
Şekil 2.21: Bileşik 35a, 35b, 35c ve 35d genel yapısı (Sachdeva vd., 2020).

Islam ve arkadaşları, 3-acilindol ile işlevselleştirilmiş Spirooxindol, bir dizi, yüksek verimle (%71-89) sentezlemiştir. Sentezlenen spirooksindol hibritleri, kolon kanserine (HCT-116), hepatoselüler karsinom (HepG2) ve prostat kanserine (PC-3) karşı antiproliferatif etkileri açısından in vitro olarak değerlendirilmiştir. Bileşik E, kolon kanseri hücreleri HCT-116'ya karşı yüksek sitotoksik aktivite ve seçicilik göstermiştir (Islam vd., 2019; Sachdeva vd., 2020).



Şekil 2.22: Bileşik E'nin kimyasal yapısı (Sachdeva vd., 2020).

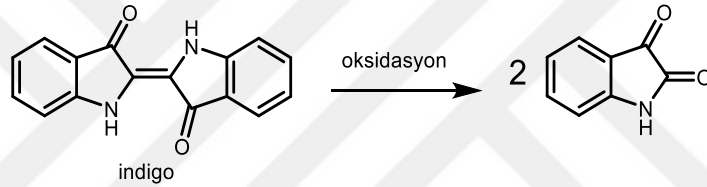
Wu ve arkadaşları, bir dizi Spiro oxindol-O-naftokinon-tetrazolo[1,5-a]pirimidin hibritleri sentezlemiş ve antitümör ajanlar olarak değerlendirmişlerdir. Test edilen bileşikler, kanser hücre dizisi HepG2'ye ($IC_{50} = 2.86\text{--}36.34\text{ uM}$) karşı nispeten yüksek sitotoksik aktivite sergilerken, normal hücre dizisi LO2, bu bileşiklere karşı daha az duyarlı bulunmuşlardır ($IC_{50} = 36.37\text{--}248.39\text{ uM}$). Test edilen tüm bileşikler arasında, ortalama IC_{50} değeri 2.86 uM olan bileşik F en aktif bileşik olarak tespit edilmiştir (Wu vd., 2018; Sachdeva vd., 2020).



Şekil 2.23: Bileşik F'nin kimyasal yapısı (Sachdeva vd., 2020).

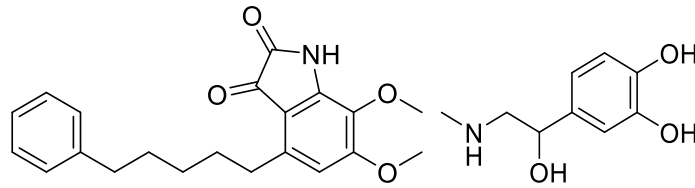
2.11. İSATİN (İNDOL-2,3-DİON) YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ

İsatın erime noltası 200-201 °C olan kırmızı renkli bir kimyasal maddedir. Su Alkol ya da asetik asitten kristallendirilerek saflaştırılabilir. İlk olarak kendine özgü mavi bir rengi olan indigonun nitrik asit ve kromik asitle oksidasyonu ile elde edilmiştir (Riva, 2006).



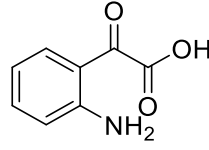
Şekil 2.24: İsatinin indigo'dan eldesi.

Doğada isatin, *Isatis tinctoria*, *Calanthe discolor* ve *Couroupita guianensis* adlı bitkilerde adrenalinin metaboliti olarak insanlarda bulunur. Metoksi fenilpentilisatin türevine ise *Melochia tomentosa* bitkisinde rastlanır (Nagarajan vd., 2008; Sonawane ve Tripathi, 2013; Kapadia vd., 1977).



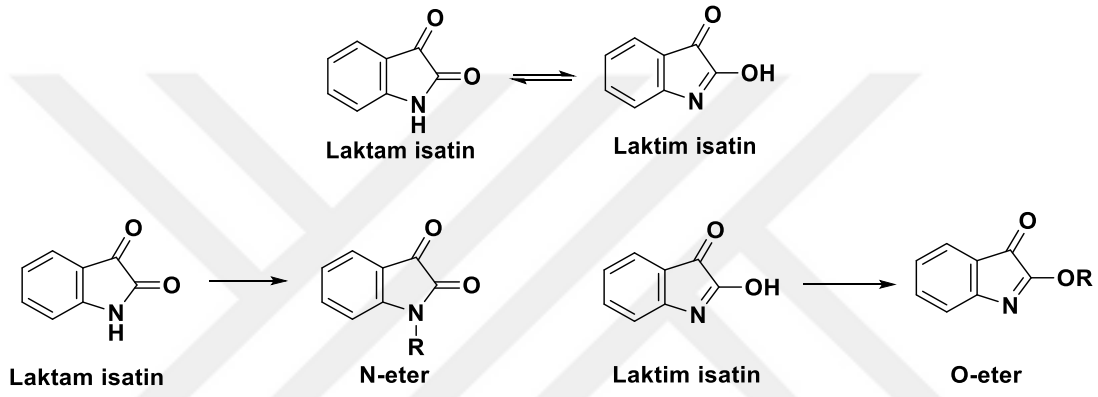
Şekil 2.25: metoksi fenilpentilisatin ve adrenalin.

İsatın eterde az çözünürken sıcak su, alkol, asetik asit ve benzende iyi çözünür durumdadır. Derişik sülfürik asit ve hidroklorik asitte çözünebilirken sodyum hidroksit ya da potasyum hidroksit içinde çözündüğünde tuzu oluşmaktadır. Bu çözeltilerin ısıtılması durumunda halka açılması gerçekleşir ve isatinik asitin sodyum ya da potasyum tuzu oluşur çözeltinin pH'sı düşürüldüğünde açılan halka tekrar kapanarak isatin oluşur (Sumpter, 1944).



Şekil 2.26: Ísatik asit formülü.

Ísatinin verdiği reaksiyonlarda *N*-eter ve *O*-eter yapabildiği gözlemlenmiştir. Bu durum ísatinin tautomerik bir bileşik olduğunun kanıtı sayılmıştır, laktam ve laktim olalarak iki formda bulunduğu anlaşılmıştır. Ísatın birçok reaksiyonda reaktiflere karşı laktam olarak davranmaktadır.

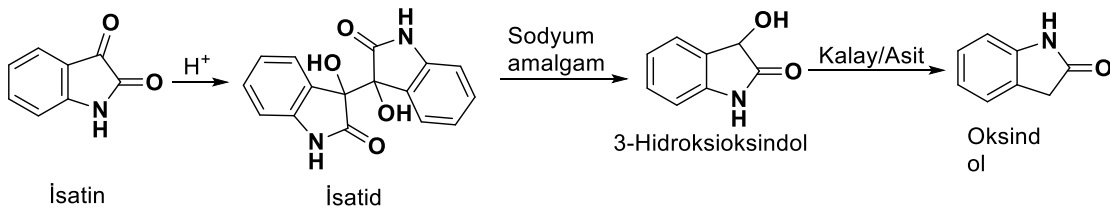


Şekil 2.27: Ísatinin tautomer yapısı.

Ísatinin *N*-alkil türevleri dayanıklı iken *O*-alkil türevleri kolaylıkla hidroliz edilebilmektedirler (Sumpter, 1944).

2.11.1. Ísatinin Redüksiyonu

Ísatinin asitle indirgenmesi ya da hidrazinle indirgenmesi sonucunda ísatid elde edilir. Sonrasında ísatid amalgamla indirgenmeye devam edilirse 3-hidroksi-oksindol elde edilir. 3-hidroksi-oksindol kalay mineral asit ya da demir hidroklorik asit ile indirgenirse oksindol elde edilir (Sumpter, 1944).

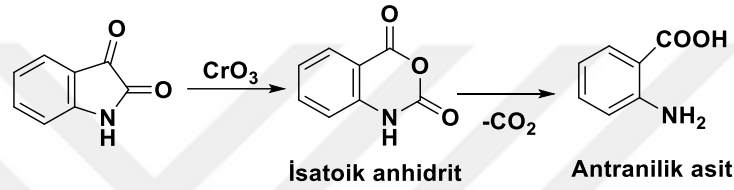


Şekil 2.28: Ísatinin asit ortamda redüksiyonu.

İsatin LiAlH_4 ile indirgendiğinde indol elde edilir. İsatınların piridin içinde lityum alüminyum hidrür ile indirgenmesiyle, orta verimlerde indoller elde edilir. Ancak, inert atmosfer altında çözücü olarak THF kullanılması durumunda daha yüksek verimlerde (%86-92) indol elde edilir. (Silva, 2001).

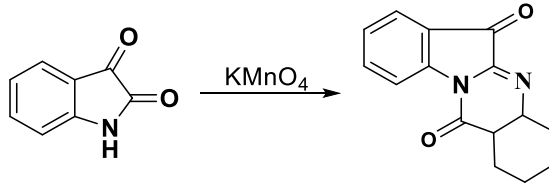
2.11.2. İsatının Oksidasyonu

İsatının oksidasyon ürünü isatoik anhidrittir, isatin kromik asitle okside edildiğinde ilk önce isatoik anhidrit oluşur sonrasında mineral asitler tepkime vermesi sağlanırsa antranilik asit oluşur (Sumpter, 1944).



Şekil 2.29: İsatının oksidasyonu.

İsatin potasyum permanganat ile okside edilirse ürün olarak anhidroisatin- α -antranilid oluşmaktadır. (Sumpter, 1944)

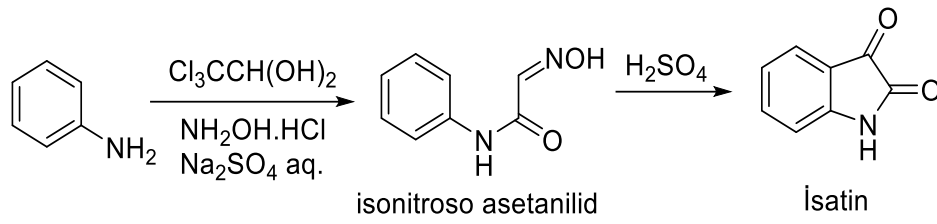


Şekil 2.30: Anhidroisatin- α -antranilid formülü.

2.12. İSATİN GENEL SENTEZ YÖNTEMLERİ

2.12.1. Sandmeyer Yöntemi

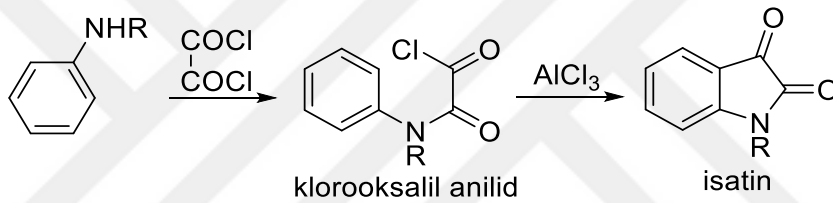
Sandmeyer yöntemi isatin sentezi için sıklıkla kullanılan en eski metottur. Bu metotla isatin sentezlemek için anilin sodyum sülfatın sulu çözeltisinde hidroksilamin hidroklorür ve kloral hidrat ile reaksiyona tabi tutulur. Bu reaksiyon sonucunda isonitroso asetanilid elde edilir. Elde edilen isonitroso asetanilid konsantre sülfürik asitle reaksiyona sokulduğunda isatin elde edilir (Rewcastle vd., 2005).



Şekil 2.31: İsatin sentezi (Sandmeyer yöntemi).

2.12.2. Stolle Yöntemi

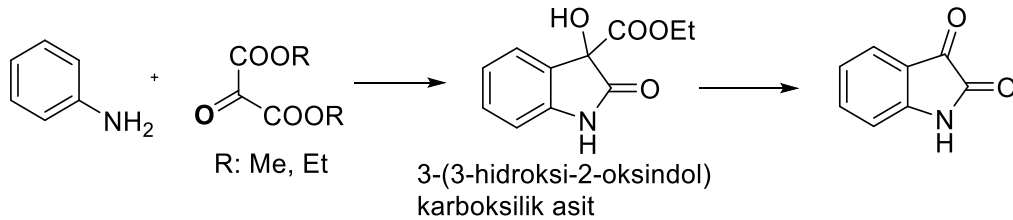
Sandmeyer yönteminden sonra gelen en yaygın metottur. Stolle yönteminde başlangıç maddesi anilin değil N-Süstitüe anilinidir, oksalil klorür ile reaksiyona sokulan N-Süstitüe anilinden ürün olarak klorooksalil anilid elde edilir. Sonrasında klorooksalil anilid AlCl_3 ile reaksiyona sokularak isatin elde edilir (Silva, 2013).



Şekil 2.32: İsatin sentezi (Stolle yöntemi).

2.12.3. Martinet Yöntemi

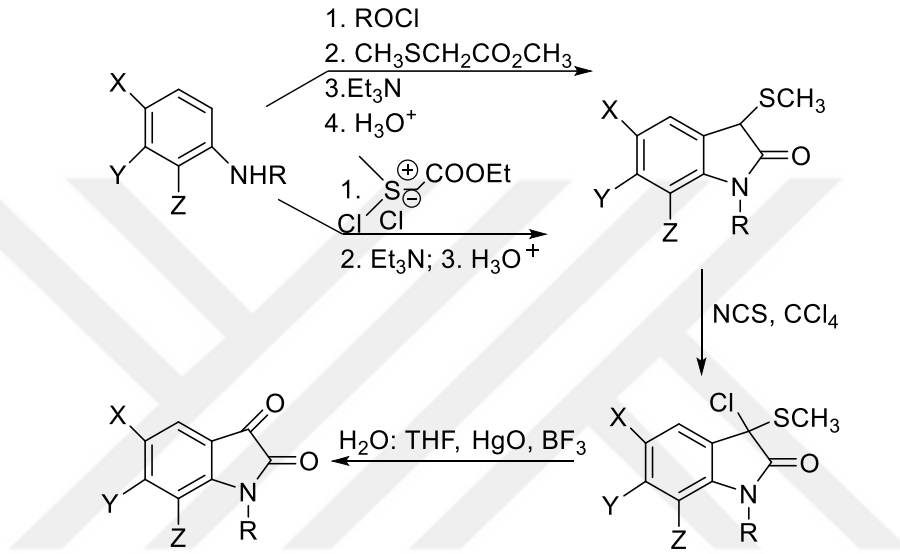
Martinet metodu ile isatin sentezinde başlangıç maddesi olarak anilin ya da süstitüe anilin kullanılabilir. Başlangıç maddesinin asidik ortamda oksomalonik asitin etil ya da metil esteri ile reaksiyonundan 3-(3-hidroksi-2-oksindol)karboksilik asit elde edilir. Sonrasında elde edilen 3-(3-hidroksi-2-oksindol)karboksilik asitin oksidatif karboksilasyonu ile isatin elde edilir (Silva, 2013).



Şekil 2.33: İsatin sentezi (Martinet yöntemi).

2.12.4. Gassman Yöntemi

Gassman metodu ile isatin sentezi 3-metiltiyo-2-oksindol ara ürünün sentezi üzerinden gerçekleşir. Ara ürünü elde etmek için alkil hipoklorit ve metiltiyoasetat ya da kloro sülfonyum tuzu kullanılır. Sonrasında elde edilen 3-metiltiyo-2-oksindolün 3. Konumu N-klorosüksinimid ile klorlanır. Elde edilen 3-kloro-3-metiltiyo-2-oksindol merkürioksit ve borontriflorür eterat kullanılarak hidroliz edilir ve isatin elde edilir (Gassman vd., 1977).

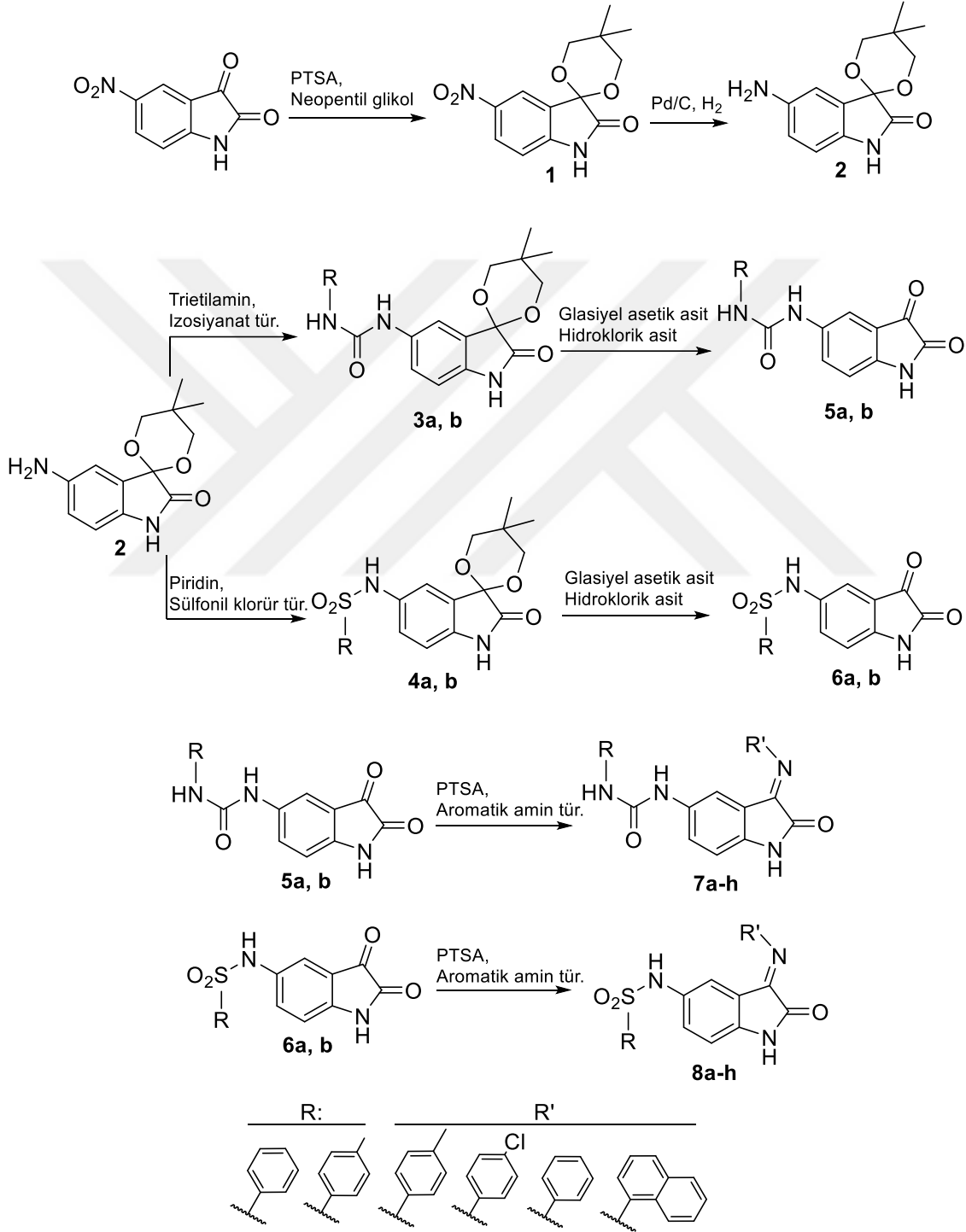


Şekil 2.34: İsatın sentezi (Gassman yöntemi).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. TASARLANAN TÜREVLERİN SENTEZLERİ

Tasarlanan bileşikler şemada gösterilen sırayla sentezlenmiştir.

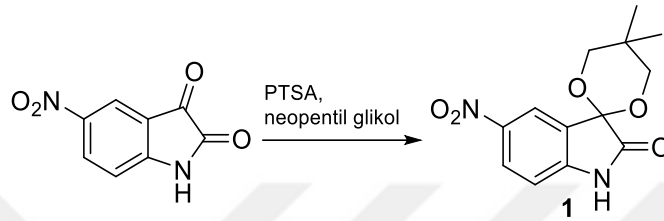


Şekil 3.1: Bileşiklerin sentez şeması.

3.1.1. 5',5'-dimetil-5-nitrospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on

Türevinin Sentezi Bileşik 1

Tasarlanan bileşiğin sentezi için 5-nitroizatin başlangıç maddesi olarak kullanıldı. 5-nitroizatin sikloheksan içinde çözülüp *p*-toluensülfonik katalizörlüğünde Dean-Stark tuzağında neopentil glolikol ile reaksiyona sokularak tasarlanan bileşiğin sentezi gerçekleştirildi. (Li vd., 2014).

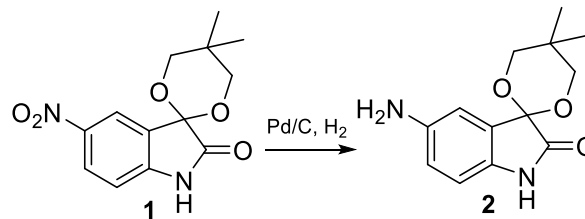


Şekil 3.2: 1 numaralı bileşiğin sentezi.

3.1.2. 5-amino-5',5'-dimetilspiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on

Türevinin Sentezi Bileşik 2

Tasarlanan bileşiğin sentezi için başlangıç maddesi olarak bir numaralı bileşik kullanılmıştır. Bir numaralı bileşik metanol içinde çözülüp Pd/C (%10) katalizörlüğünde H₂ ile reaksiyona sokularak nitro grubunun hidrojenizasyonu gerçekleştirilerek 2 numaralı bileşik elde edildi (Magiatis vd., 2010).



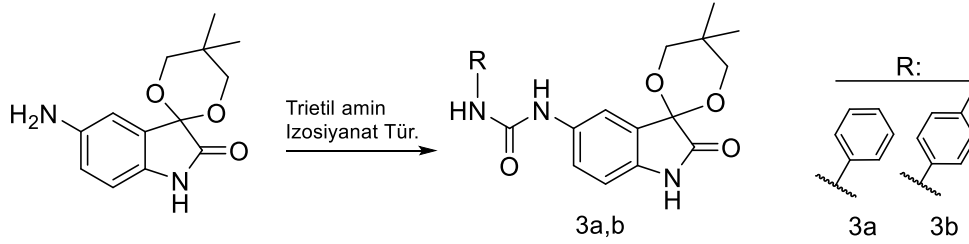
Şekil 3.3: 2 numaralı bileşiğin sentezi.

3.1.3. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-sübstitüeüre

Türevlerinin Sentezi Bileşikler 3a ve 3b

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için başlangıç maddesi olarak iki numaralı bileşik kullanılmıştır. İki numaralı bileşik THF içerisinde çözülüp trietilamin katalizörlüğünde

izosiyanat türevleri (fenil izosiyanat, *p*-tolil izosiyanat) ile reaksiyona sokularak tasarlanan üre türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

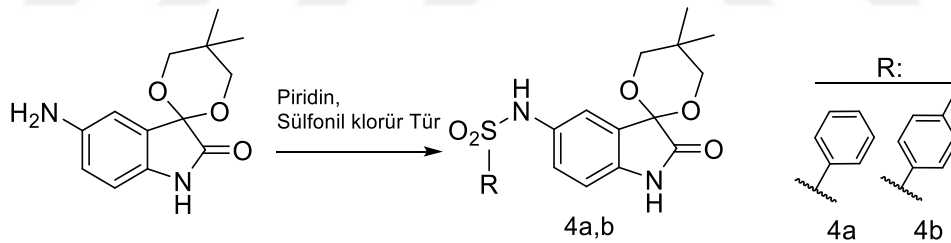


Şekil 3.4: 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-sübstitüe üre türevlerinin sentezi.

3.1.4. N-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)sülfonamid

Türevlerinin Sentezi Bileşikler 4a ve 4b

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için iki numaralı bileşik başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır. İki numaralı bileşik diklorometan çözülüp piridin katalizörlüğünde sülfonil klorür türevleri (benzensülfonil klorür, *p*-toluensülfonil klorür) ile reaksiyona sokularak tasarlanan sülfonamid türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

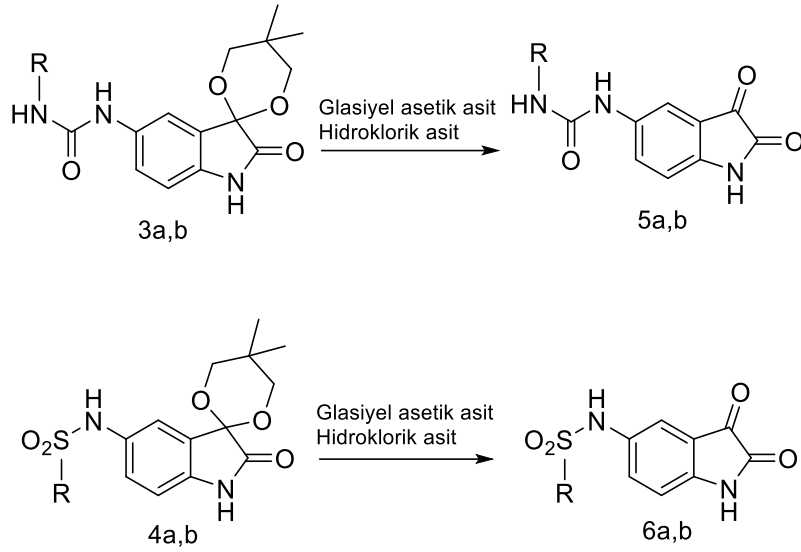


Şekil 3.5: N-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)sülfonamid türevlerinin sentezi.

3.1.5. 1-(2,3-dioksoindolin-5-il)-3- sübstitüe üre ve

N-(2,3-dioksoindolin-5-il) sülfonamid Türevlerinin Sentezi Bileşikler 5a, 5b ve 6a, 6b

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için 3a, b ve 4a, b başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır. İlgili bileşikler glasiyel asetik asit ve hidroklorik asit karışımına çözülüp yapıya koruyucu grup olarak bağlanan ketal grubu hidroliz edilmiş, tasarlanan türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir.

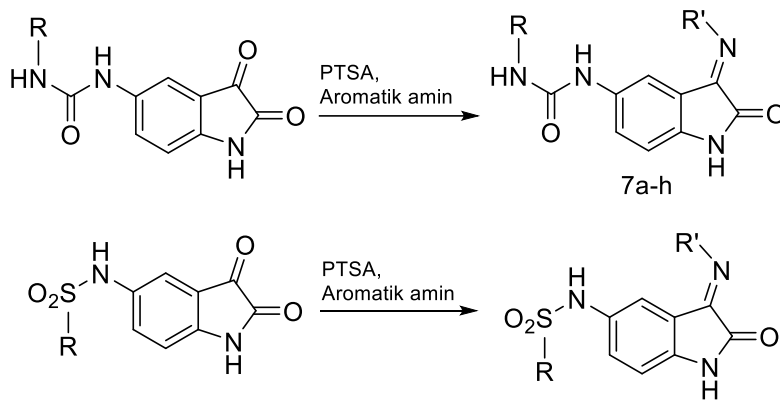


Şekil 3.6: 1-(2,3-dioksoindolin-5-il)-3-sübstitüe üre ve N-(2,3-dioksoindolin-5-il)sülfonamid türevlerinin sentezi.

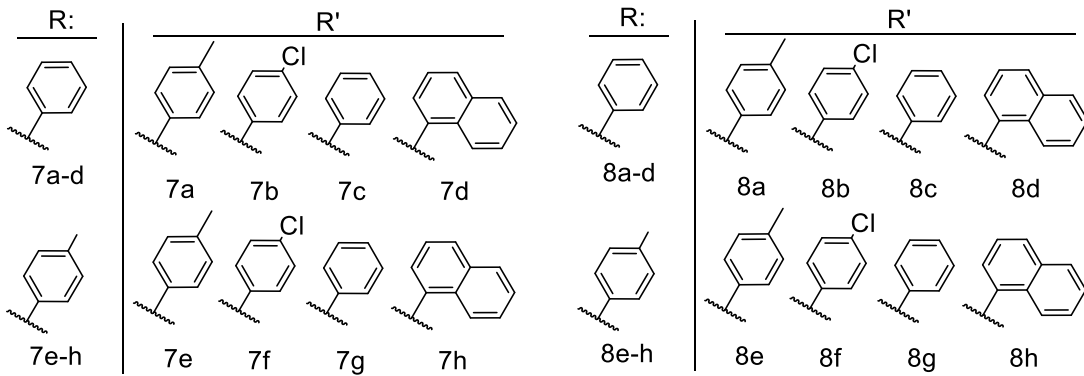
3.1.6. (E/Z)-1-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)-3-sübstitüe üre ve (E/Z)-N-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)sülfonamid Türevlerinin Sentezi

Bileşikler 7a-h ve 8a-h

Tasarlanan bileşiklerin sentezi için 5a, b ve 6a, b bileşikleri başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır. 5a, b bileşikler DMF, 6a, b bileşikler metanolde ise içinde çözülerek *p*-toluensülfonik asit katalizörlüğünde aromatik aminlerle reaksiyona sokularak tasarlanan Schiff bazı türevi bileşiklerin sentezi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7: (E/Z)-1-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)-3-sübstitüeüre ve (E/Z)-N-(2-okso-3-(sübstitüeimino)indolin-5-il)sülfonamid türevlerinin sentezi.



Şekil 3.7: (*E/Z*)-1-(2-okso-3-(süstitüimino)indolin-5-il)-3-süstitüüre ve (*E/Z*)-*N*-(2-okso-3-(süstitüimino)indolin-5-il)sülfonamid türevlerinin sentezi (Devamı).

3.2. ANALİZLERDE KULLANILAN YÖNTEMLER

3.2.1. Kromatografik Analizler

Tasarlanan bileşiklerin sentezleri esnasında reaksiyon takibi yapmak e elde edilen ürünlerin saflıkları saptamak için ince tabaka kromatografisine baş vuruldu. Metot için 0.2 mm analitik TLC (60 F-254, Merck) kaplı alüminyum plaklar kullanıldı. TLC plakaları üzerinde lekeler 254 nm dalga boyunda UV ışık altında gözlemlendi (Camag 30004). Saflaştırma amacı ile kolon kromatografisi yapıldığında Merk (200-300 mesh) silicagel kullanıldı.

3.2.2. Erime Noktası Tayinleri

Erime noktası tayinleri Stvart SMP30 erime noktası tayini cihazında yapıldı.

3.2.3. Spektral Analizler

3.2.3.1. IR spektrumları

Bileşiklerin IR spektrumları Shmadzu IRAffinity-1S FT-IR spektrometre kullanılarak alındı.

3.2.3.2. ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları

Bileşiklerin ¹H- ve ¹³C-NMR spektrumları Varyant (400 MHz) spektroskopisi spektrometresi ile çözücü olarak *d*₆-DMSO (%1 TMS) kullanılarak alındı.

3.2.3.3. K t le (Mass) spektrumları

Bileşiklerin MASS analizleri Agilent 1100 LC / MSD (70 eV) spektrometresi kullanılarak Elektrosprey İyonizasyon (ESI) yöntemi ile gerçekleştirildi.

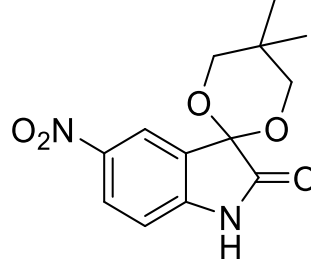
3.3. SENTEZ İŞLEMLERİNDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Sentez için kullanılan tüm bileşikler ticari olarak temin edilebilir. 5-nitroizatin, neopentil glikol, sikloheksan, Pd/C (%10), trietilamin, fenil izosiyanat, *p*-tolil izosiyanat, piridin, benzensülfonil klorür, *p*-toluensülfonil klorür, *p*-toluidin, *p*-kloroanilin, anilin, α -naftilamin Aldrich firmasından satın alındı. *p*-toluensülfonik asit Carlo Erba firmasından satın alındı. Sodyum karbonat, celite, buzlu asetik asit, hidroklorik asit, sodyum bikarbonat, sodyum sülfat, tetrahidrofuran, dimetilformamid, metanol, etanol, diklorometan, etil asetat Merck firmasından satın alındı.

4. BULGULAR

4.1. BAŞLANGIÇ MADDELERİNİN SENTEZİ

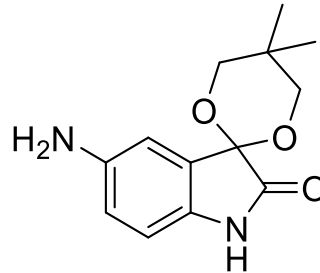
4.1.1. 5',5'-dimetil-5-nitrospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Sentezi (1)



5-nitroizatin 18 (mmol) sikloheksan (80 ml) içinde süspanse edildi. Elde edilen süspansiyona *p*-toluensülfonik (2.3 mmol) ve neopentil glükol (18 mmol) ilave edildi. Reaksiyon 24 saat Dean-Stark tuzacağına bağlı şekilde kaynatıldı. Sonrasında oda sıcaklığına kadar soğutulan reaksiyon filtre edildi, elde edilen katı sırası ile %5'lik sodyum karbonat sulu çözeltisi ve soğuk saf ile yıkandı. Katı madde vakum altında 35 °C'de kurutuldu. Verim: %98,8. (Li vd., 2014)

EN: 208-210 °C Lit. EN: 212.3-214.1°C

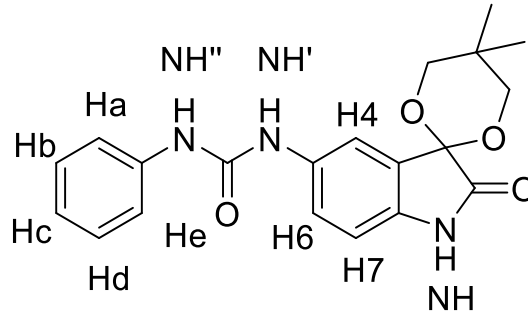
4.1.2. 5-amino-5',5'-dimetilspiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-2-on Sentezi (2)



Bir numaralı bileşik (10.8 mmol) metanol (75 ml) içinde çözülüp Pd/C %10 (450 mg) katalizörlüğünde H₂ ile atmosferik basınç altında 24 saat karıştırıldı. Sonrasında çözelti celite yatağından süzülde, celite yatağı soğuk metonelle yıkandı. Süzüntü evapore edildi, katı madde elde edildi. Verim: %96. (Magiatis vd., 2010)

EN: 198-202 °C Lit. EN: 212-214 °C (Yu vd., 2019)

4.1.3. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-fenilüre Sentezi (3a)



İki numaralı bileşik (1 mmol), fenil izosiyanat (1 mmol) trietilamin (1 mL) THF (25 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 6 saat kaynatıldı. Sonrasında çözücünün tamamı evapore edildi. Katı madde diklorometan ile yıkandı vakum altında kurutuldu. Ürün, yüksek verim ve saflıkta etanolden kristalleştirildi. Verim %76.

EN: 256-258 °C

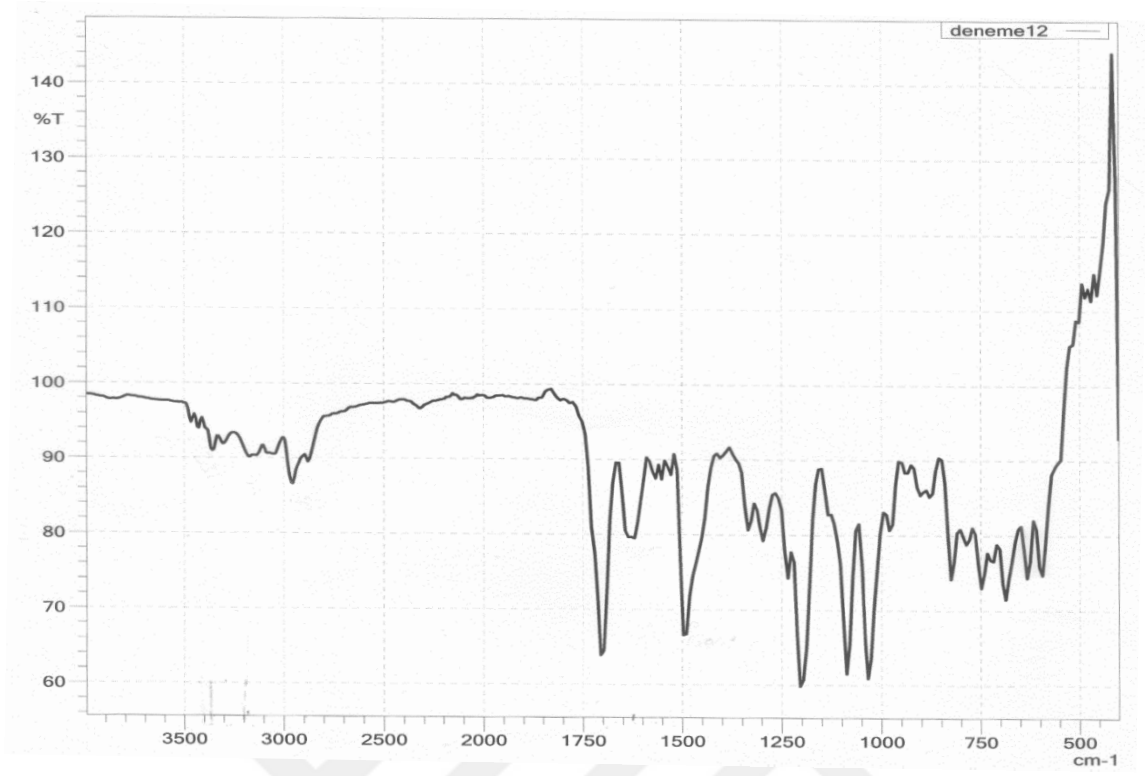
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3340 (NH), 3290 (NH), 3160 (isatin NH), 1710 (isatin C=O), 1650 (üre C=O) cm^{-1}

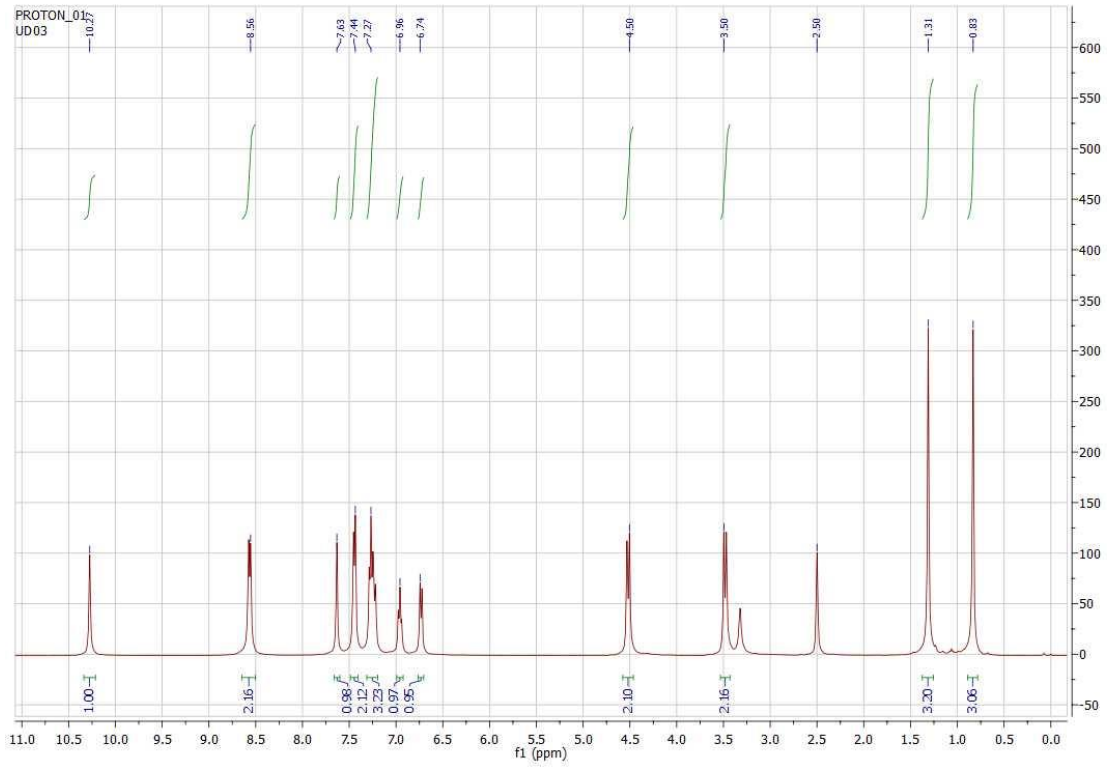
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.27 (s, 1H, NH), 8.56 (d, J = 8.0 Hz, 2H, NH', NH''), 7.63 (s, 1H, H4), 7.44 (d, J = 7.8 Hz, 2H, Ha, He), 7.26 (m, 3H, Hb, Hd, H6), 6.96 (t, 1H, Hc), 6.73 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H7), 4.52 (d, J = 10.6 Hz, 2H, CH₂), 3.48 (d, J = 10.7 Hz, 2H, CH₂), 1.31 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃).

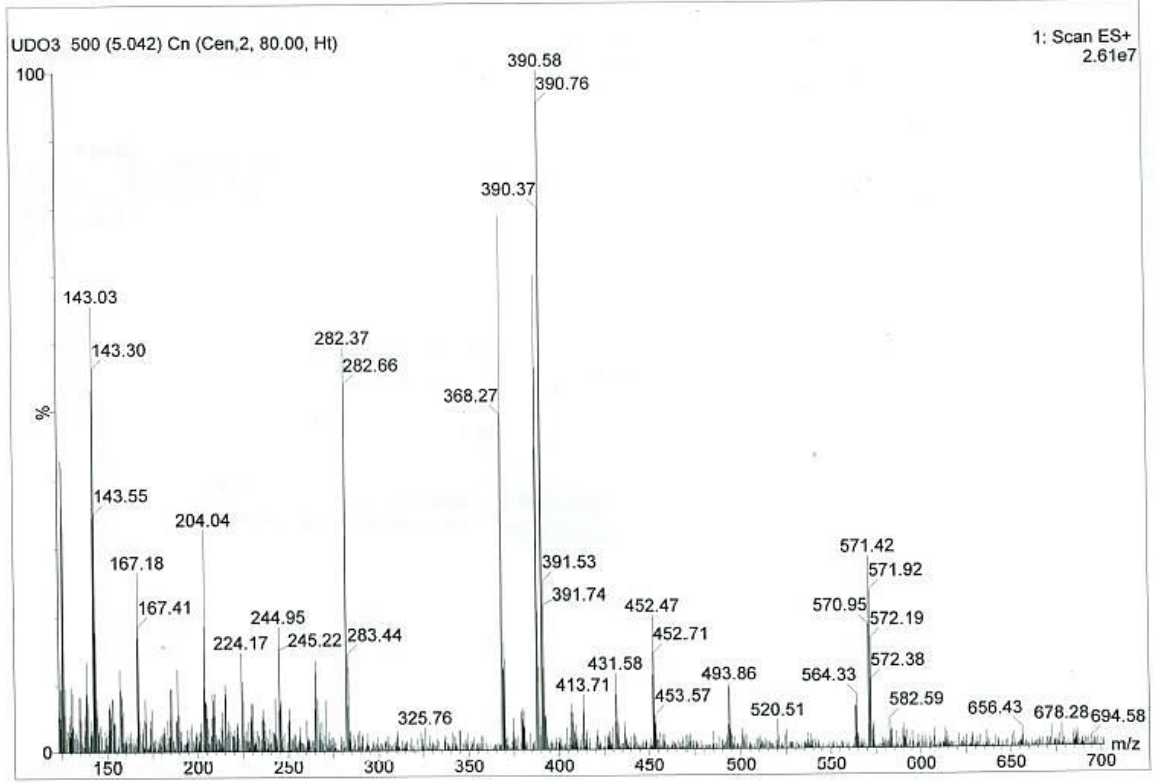
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 368.27 [MH^+].



Şekil 4.1: Bileşik 3a'nın IR spektrumu.

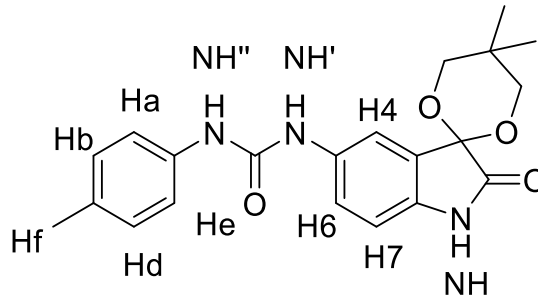


Şekil 4.2: Bileşik 3a'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.3: Bileşik 3a'nın kütle spektrumu.

4.1.4. 1-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-3-*p*-tolilüre Sentezi (3b)



İki numaralı bileşik (1 mmol), *p*-tolil izosiyanat (1 mmol) trietilamin (1 mL) THF (25 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 6 saat kaynatıldı. Sonrasında çözücünün tamamı evapore edildi. Katı madde diklormetan ile yıkandı vakum altında kurutuldu. Ürün, yüksek verim ve saflıkta etanolden kristalleştirildi. Verim %91

EN: 210-212 °C

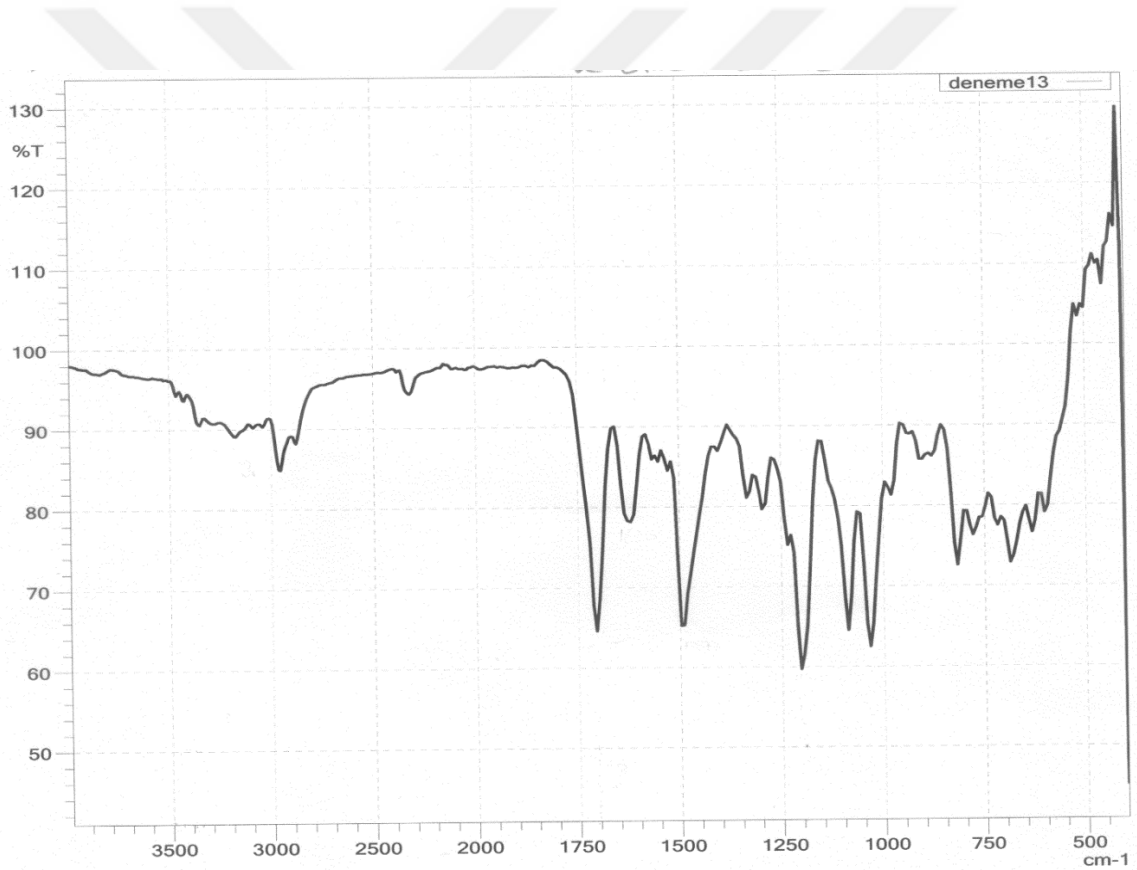
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3315 (NH), 3300 (NH), 3180 (isatin NH), 1700 (isatin C=O), 1645 (üre C=O) cm^{-1}

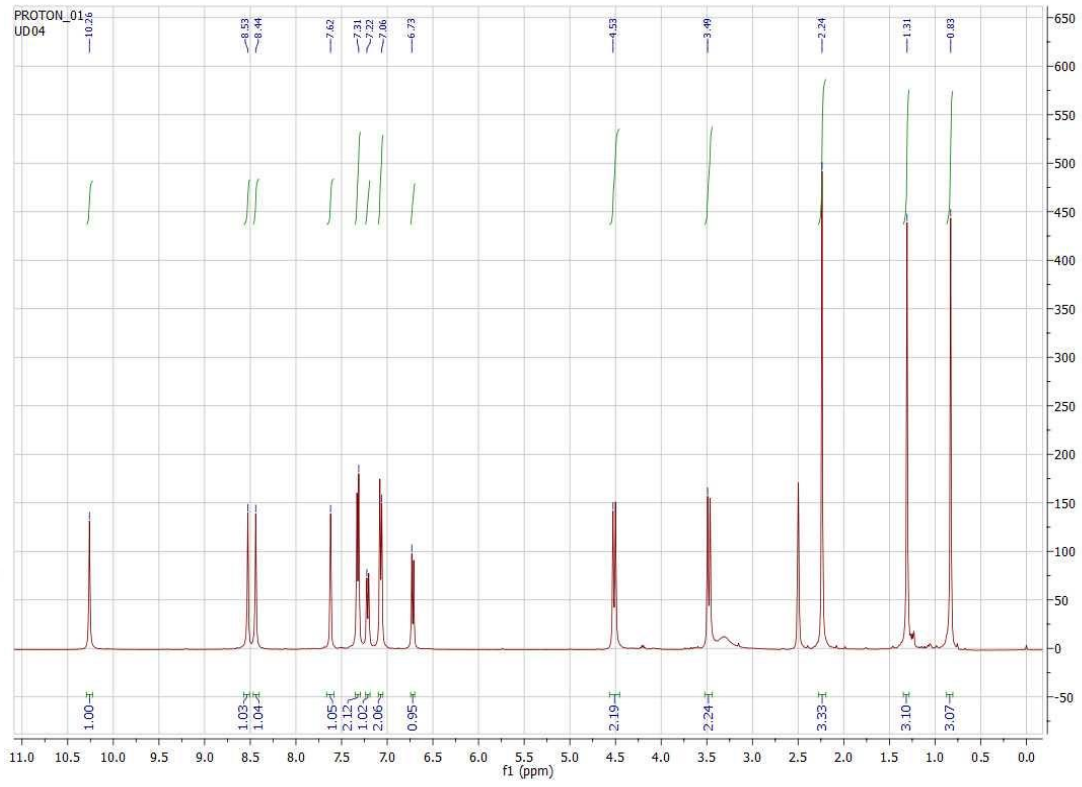
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.26 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, NH'), 8.44 (s, 1H, NH''), 7.62 (s, 1H, H4), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, Ha, He), 7.21 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H6), 7.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, Hb, Hd), 6.72 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H7), 4.51 (d, $J = 10.7$ Hz, 2H, CH₂), 3.48 (d, $J = 10.7$ Hz, 2H, CH₂), 2.24 (s, 3H, Hf), 1.31 (s, 3H, CH₃), 0.83 (s, 3H, CH₃).

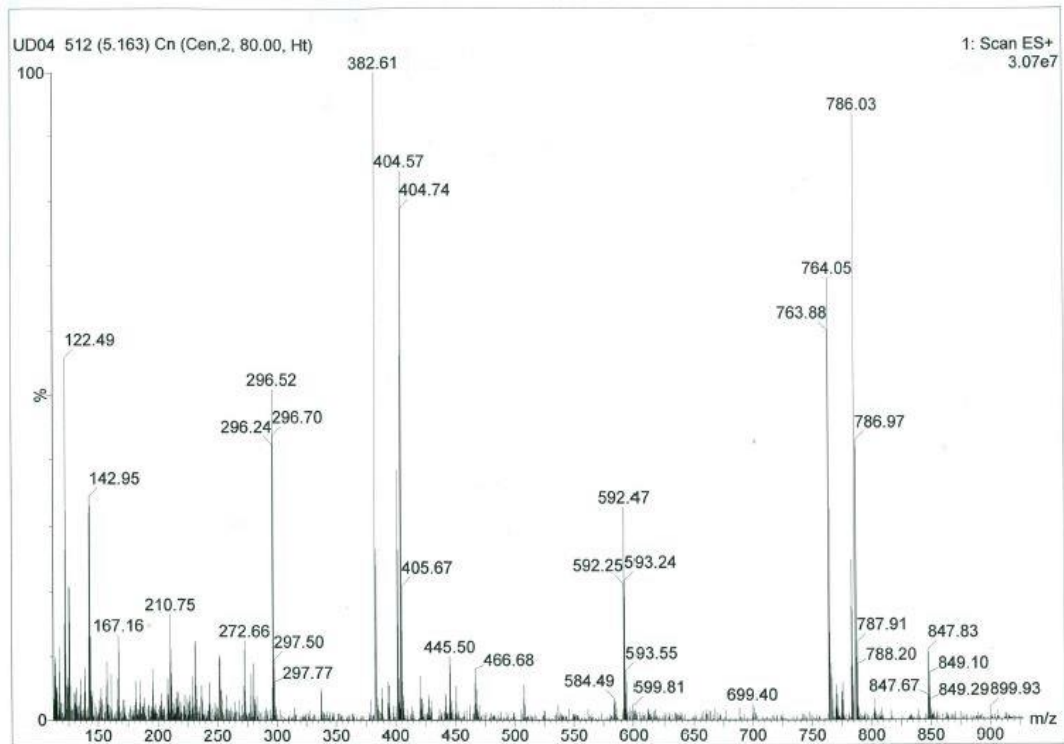
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 382.61 [MH^+].



Şekil 4.4: Bileşik 3b'nin IR spektrumu.

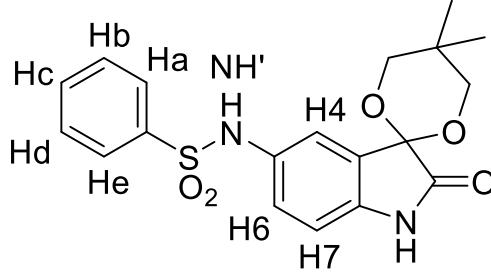


Şekil 4.5: Bileşik 3b'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.6: Bileşik 3b'nin kütle spektrumu.

4.1.5. N-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)benzensülfonamid
Sentezi (4a)



İki numaralı bileşik (1 mmol), benzensülfonil klorür (1 mmol) piridin (0.5 ml) diklorometan (10 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 24 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Sonrasında organik faz sırasıyla %5 HCl ve NaHCO₃ sulu çözeltileri ile ekstrakte edildi ve organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Çözücünün tamamı evapore edilerek ürün elde edildi. Verim: %96,8.

EN: 185-188 °C

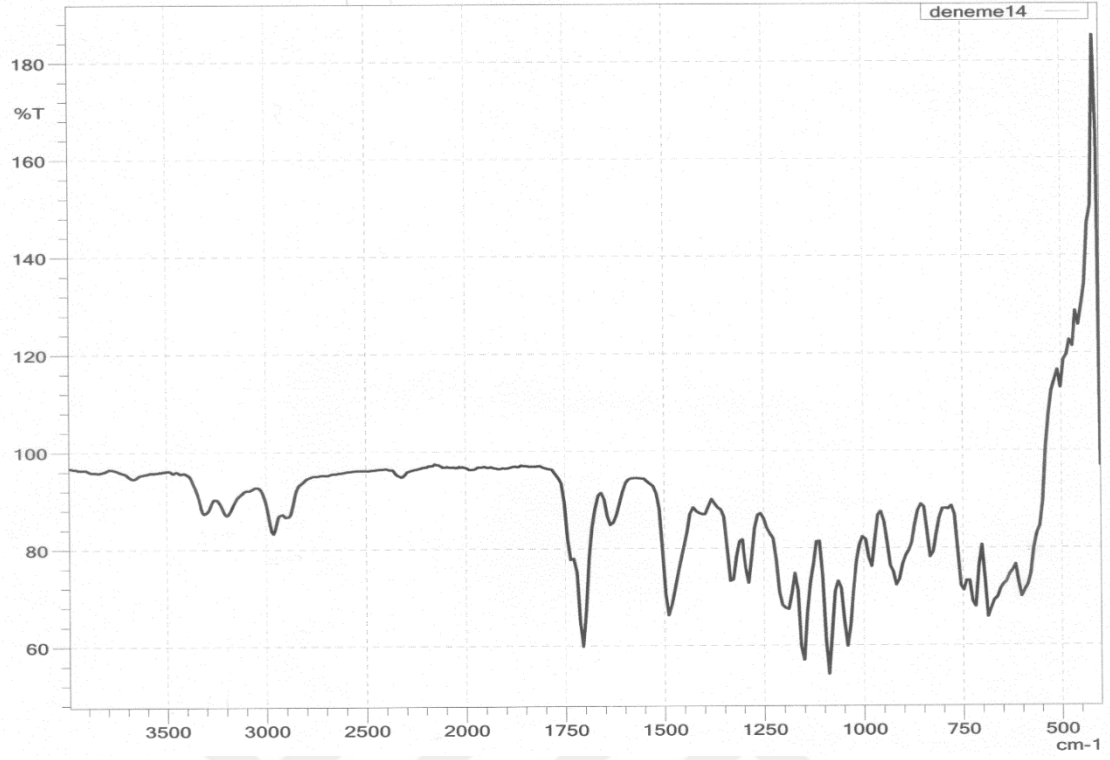
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3300 (sülfonamid NH), 3190 (isatin NH), 1710 (C=O) cm⁻¹

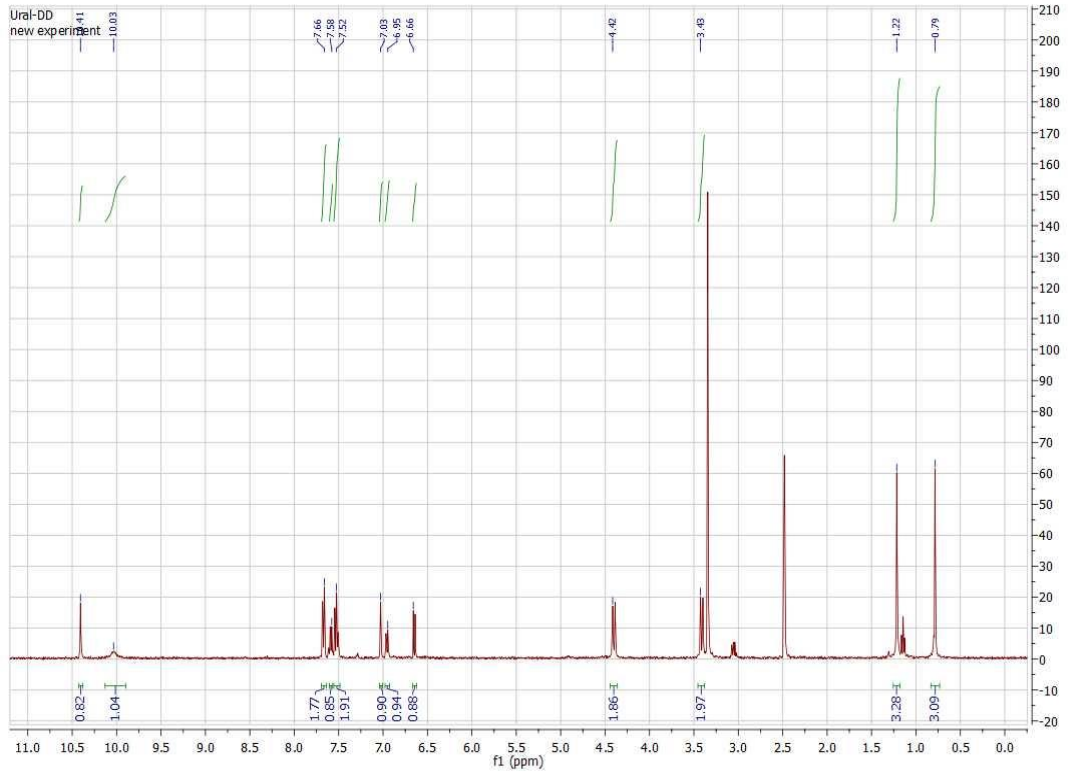
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.41 (s, 1H, NH), 10.03 (s, 1H, NH'), 7.67 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, Ha, He), 7.59 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H, H6), 7.52 (m, 2H, Hb, Hd), 7.03 (s, 1H, H4), 6.95 (dd, 8.4, 2 Hz, 1H, Hc), 6.65 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H7), 4.40 (d, *J* = 10.9 Hz, 2H, CH₂), 3.41 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H, CH₂), 1.22 (s, 3H, CH₃), 0.79 (s, 3H, CH₃).

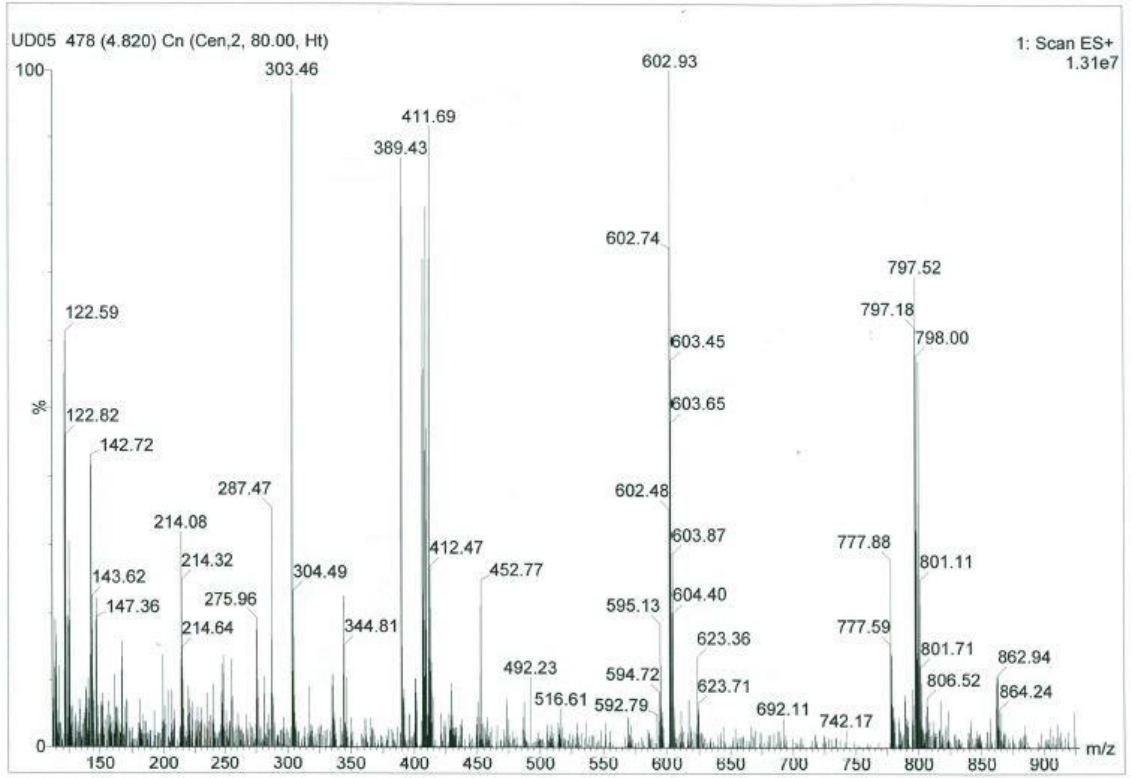
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 389.43 [MH⁺].



Şekil 4.7: Bileşik 4a'nin IR spektrumu.

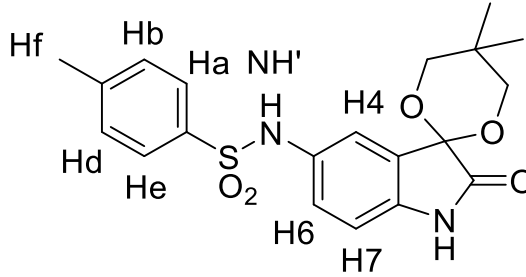


Şekil 4.8: Bileşik 4a'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.9: Bileşik 4a'nın kütle spektrumu.

4.1.6. *N*-(5',5'-dimetil-2-oksospiro[indolin-3,2'-[1,3]dioksan]-5-il)-4-metilbenzen sülfonamid Sentezi (4b)



İki numaralı bileşik (1 mmol), *p*-toluensülfonil klorür (1 mmol) piridin (0.5 ml) diklormetan (10 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 24 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Sonrasında organik faz sırasıyla 5% HCl ve NaHCO₃ sulu çözeltileri ile ekstrakte edildi ve organik faz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Çözücünün tamamı evapore edilerek ürün elde edildi. Verim: %86,2.

EN: 203-205 °C

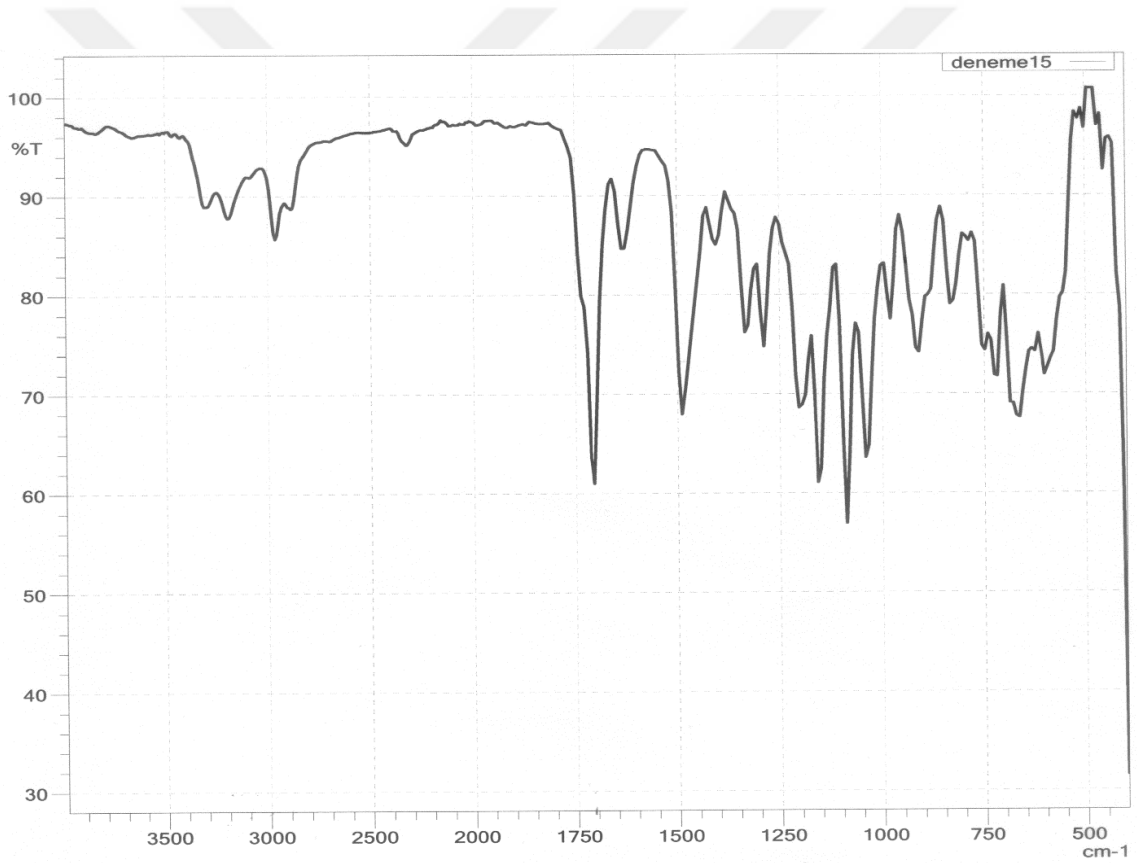
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3295 (sülfonamid NH), 3190 (isatin NH), 1700 (C=O) cm^{-1}

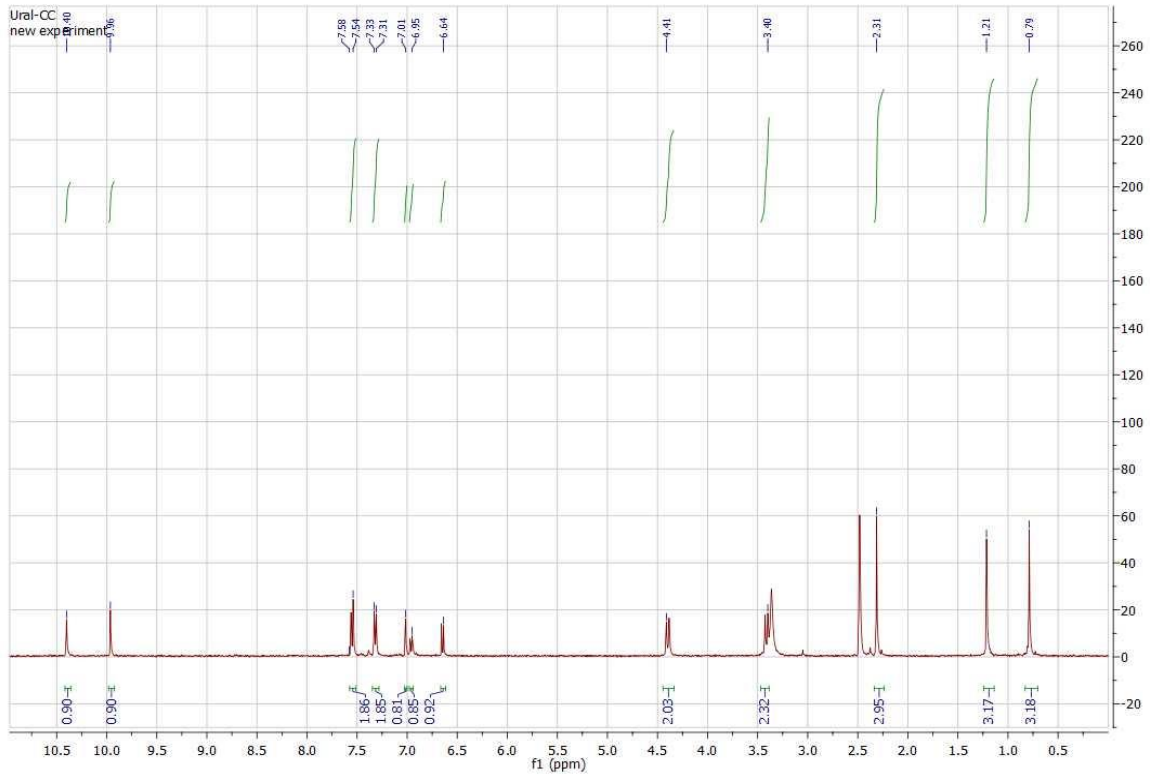
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.40 (s, 1H, NH), 9.96 (s, 1H, NH'), 7.55 (d, J = 8.2 Hz, 2H, Ha, He), 7.32 (d, J = 8.1 Hz, 2H, Hb, Hd), 7.01 (s, 1H, H4), 6.96 (dd, J = 8.3, 2.2 Hz, 1H, H6), 6.65 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H7), 4.40 (d, J = 10.9 Hz, 2H, CH₂), 3.41 (d, J = 11.0 Hz, 2H, CH₂), 2.29 (s, 3H, Hf), 1.21 (s, 3H, CH₃), 0.76 (s, 3H, CH₃).

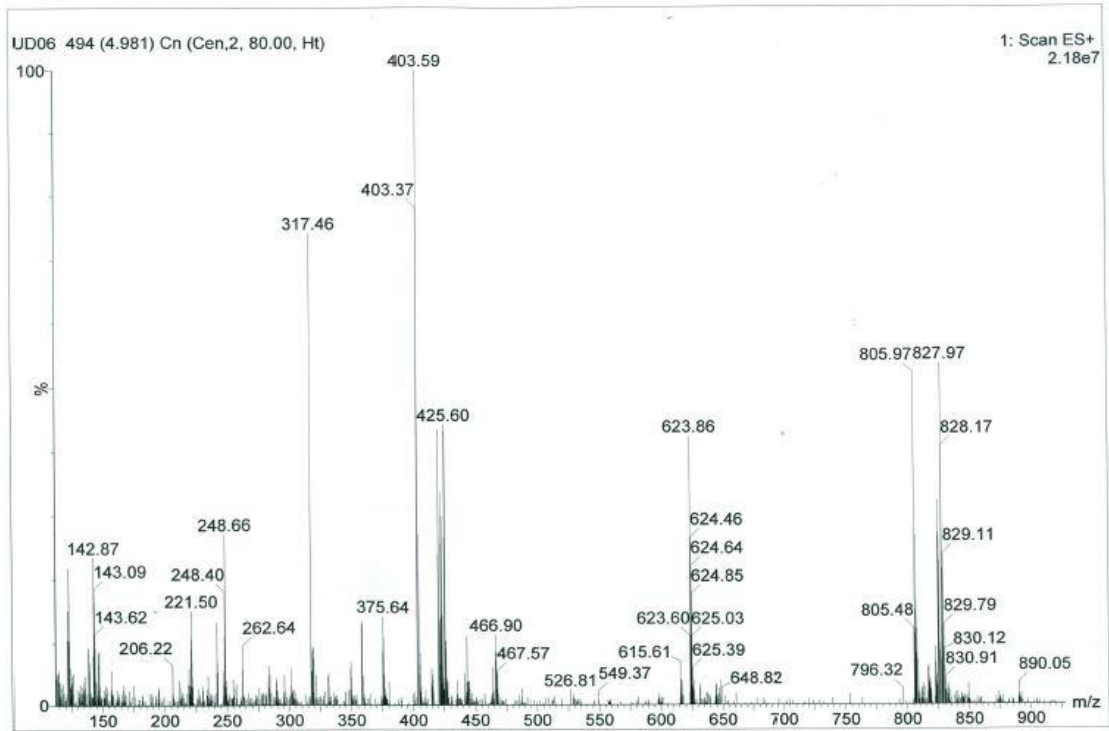
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 403.59 [MH^+].



Şekil 4.10: Bileşik 4b'nin IR spektrumu.

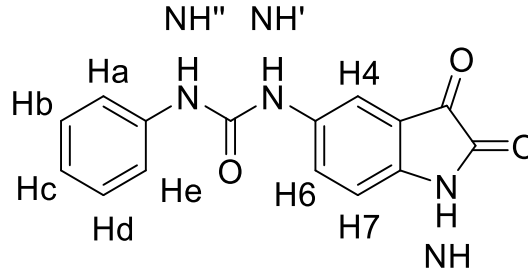


Şekil 4.11: Bileşik 4b'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.12: Bileşik 4b'nin kütle spektrumu.

4.1.7. 1-(2,3-dioksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (5a)



Bileşik 3a glasiyel asetik asit-hidroklorik asit karışımında 35 ml (9:1) çözülüp 12 saat 30°C'de karıştırıldı. Sonrasında çözelti soğuk saf su (50 ml) içerisine döküldü. Oluşan çökelek soğuk saf ile yıkandı. Elde edilen katı madde vakum altında kurutularak ürün elde edildi. Verim: %87.

EN: >350 °C

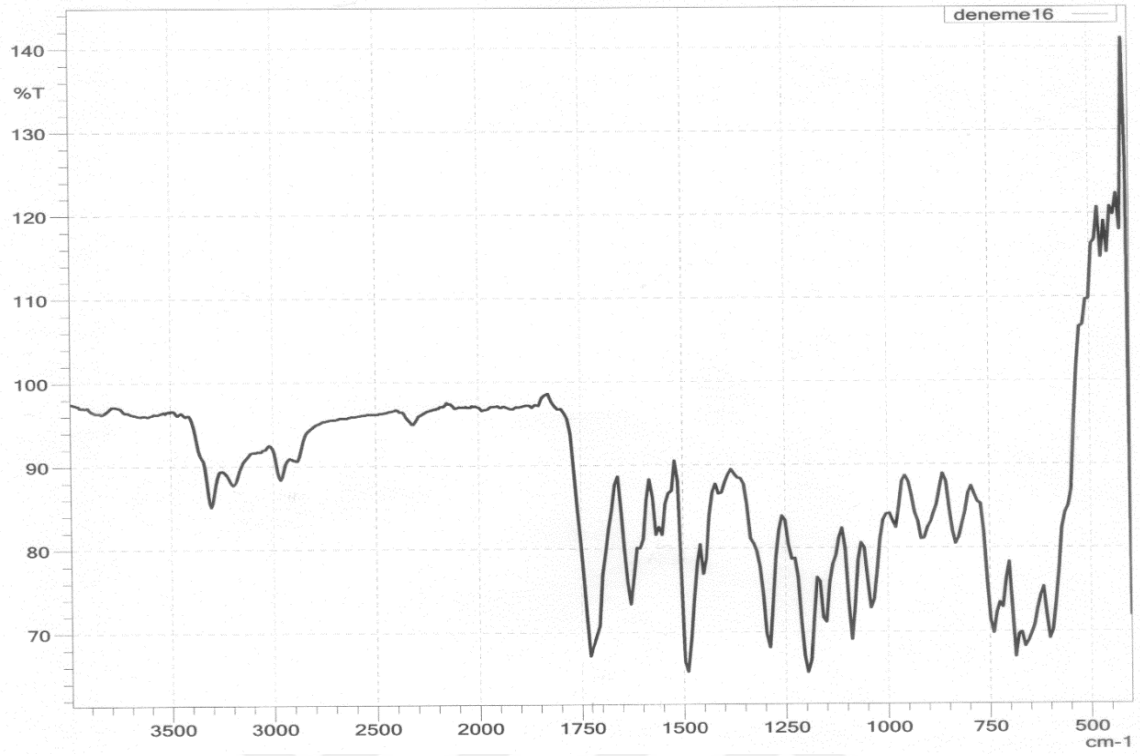
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3300 (NH), 3190 (isatin NH), 1730 (laktam C=O), 1650 (üre C=O), 1610 (isatin C=O) cm^{-1}

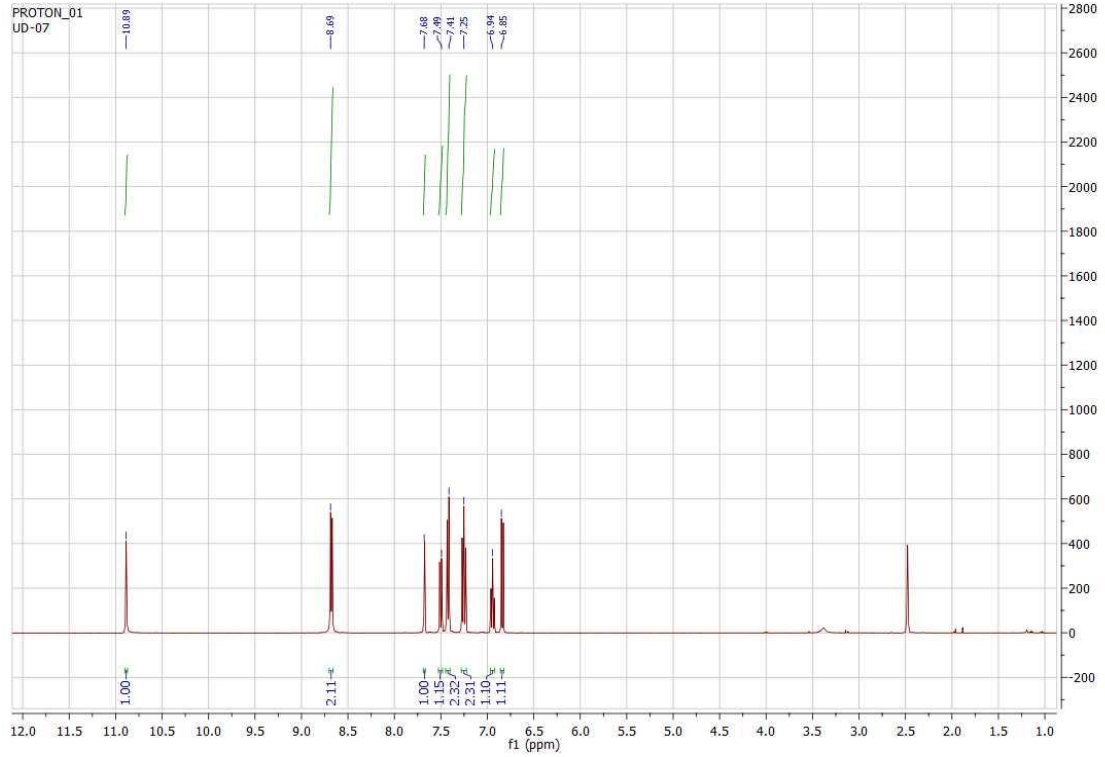
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.89 (s, 1H, NH), 8.68 (d, J = 6.8 Hz, 2H, NH', NH''), 7.68 (d, J = 2.3 Hz, 1H, H4), 7.50 (dd, J = 8.4, 2.3 Hz, 1H, H6), 7.42 (dd, J = 8.6, 1.0 Hz, 2H, Ha, He), 7.25 (t, 2H, Hb, Hd), 6.94 (t, 1H, Hc), 6.84 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H7).

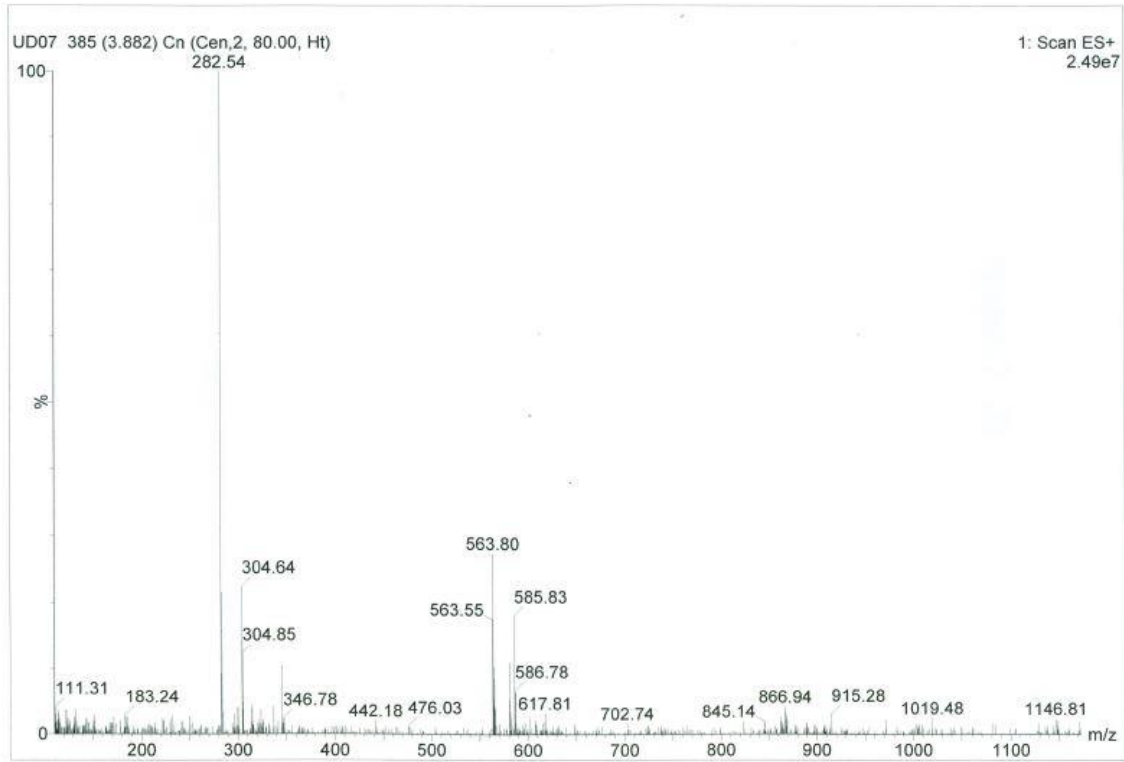
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 282.54 [MH^+].



Şekil 4.13: Bileşik 5a'nın IR spektrumu.

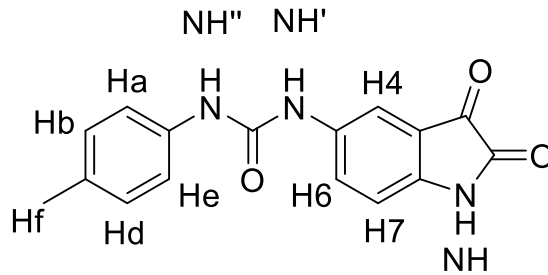


Şekil 4.14: Bileşik 5a'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.15: Bileşik 5a'nın kütle spektrumu.

4.1.8. 1-(2,3-dioksoindol-5-il)-3-(*p*-tolil)üre Sentezi (5b)



Bileşik 3b glasiyel asetik asit-hidroklorik asit karışımında 35 ml (9:1) çözülüp 12 saat 30°C'de karıştırıldı. Sonrasında çözelti soğuk saf su (50 ml) içerisine döküldü. Oluşan çökelek soğuk saf ile yıkandı. Elde edilen katı madde vakum altında kurutularak ürün elde edildi. Verim: %86.

EN: 275-278 °C

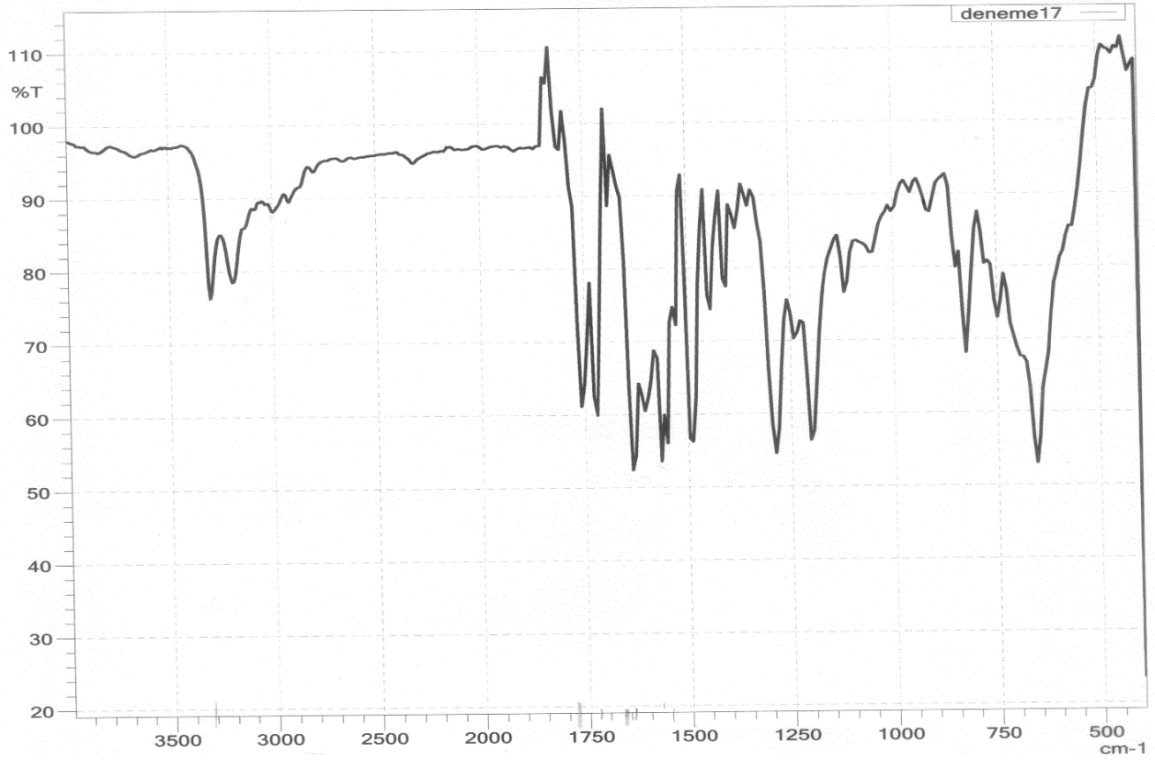
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3295 (NH), 3190 (isatin NH), 1750 (laktam C=O), 1680 (üre C=O), 1610 (isatin C=O) cm^{-1}

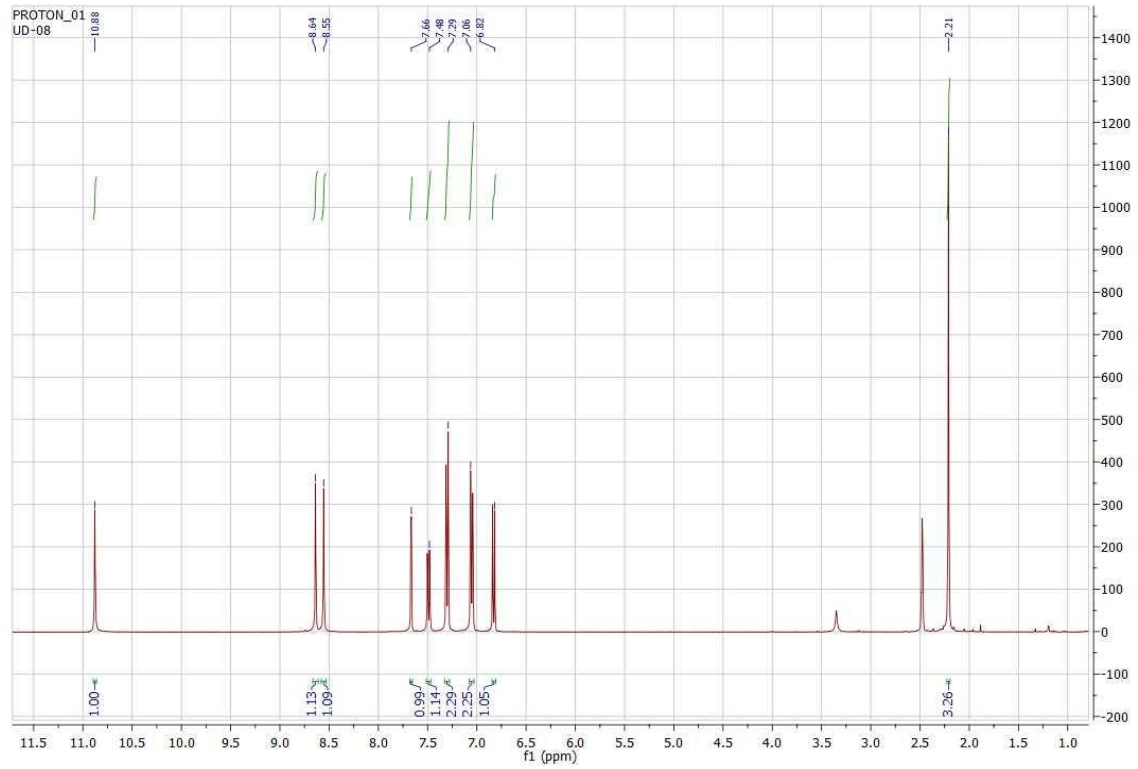
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.88 (s, 1H, NH), 8.64 (s, 1H, NH'), 8.55 (s, 1H, NH''), 7.67 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H4), 7.49 (dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H, H6), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ha, He), 7.05 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Hb, Hd), 6.83 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H7), 2.21 (s, 3H, Hf).

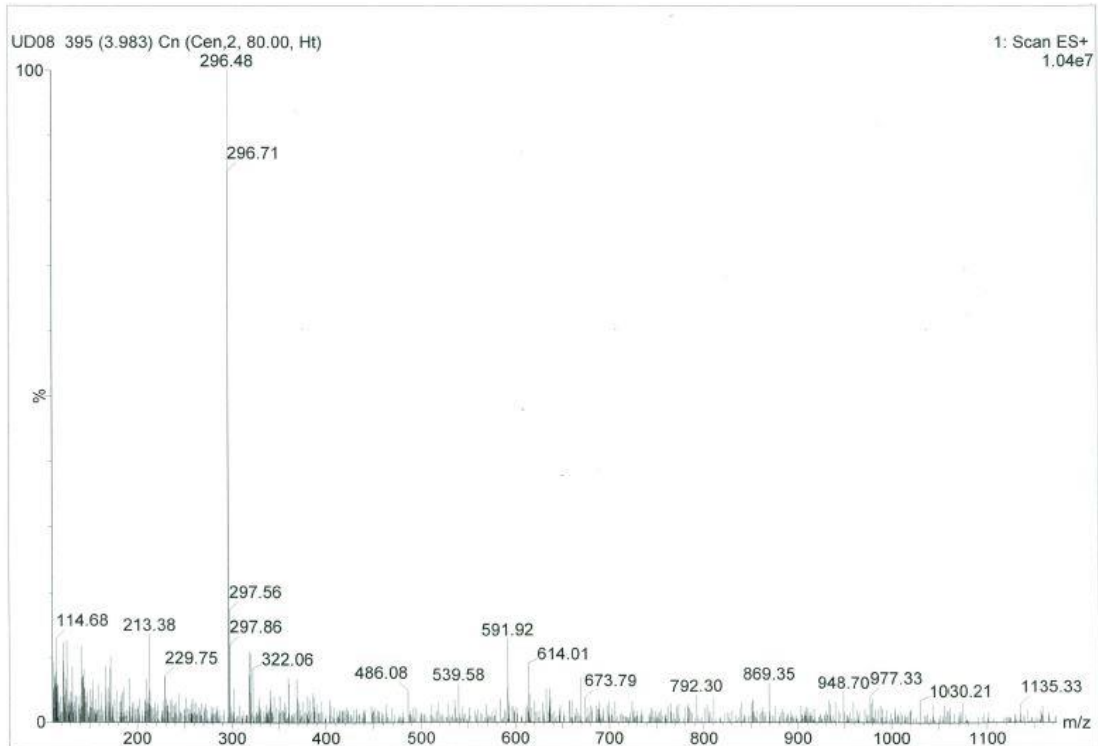
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 296.48 [MH⁺].



Şekil 4.16: Bileşik 5b'nin IR spektrumu.

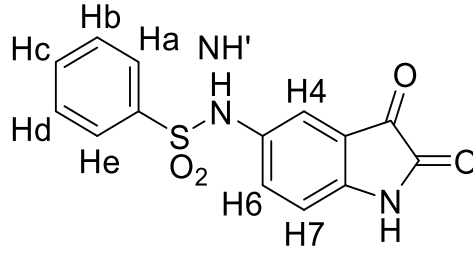


Şekil 4.17: Bileşik 5b'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.18: Bileşik 5b'nin kütle spektrumu.

4.1.9. N-(2,3-dioksoindol-5-il)benzensülfonamid Sentezi (6a)



Bileşik 4a glasiyel asetik asit-hidroklorik asit karışımında 35 ml (9:1) çözülüp 12 saat 30°C’de karıştırıldı. Sonrasında çözelti soğuk saf su (50 ml) içerisine döküldü. Oluşan çökelek soğuk saf ile yıkandı. Elde edilen katı madde vakum altında kurutularak ürün elde edildi. Verim: %86.

EN: 153-155 °C

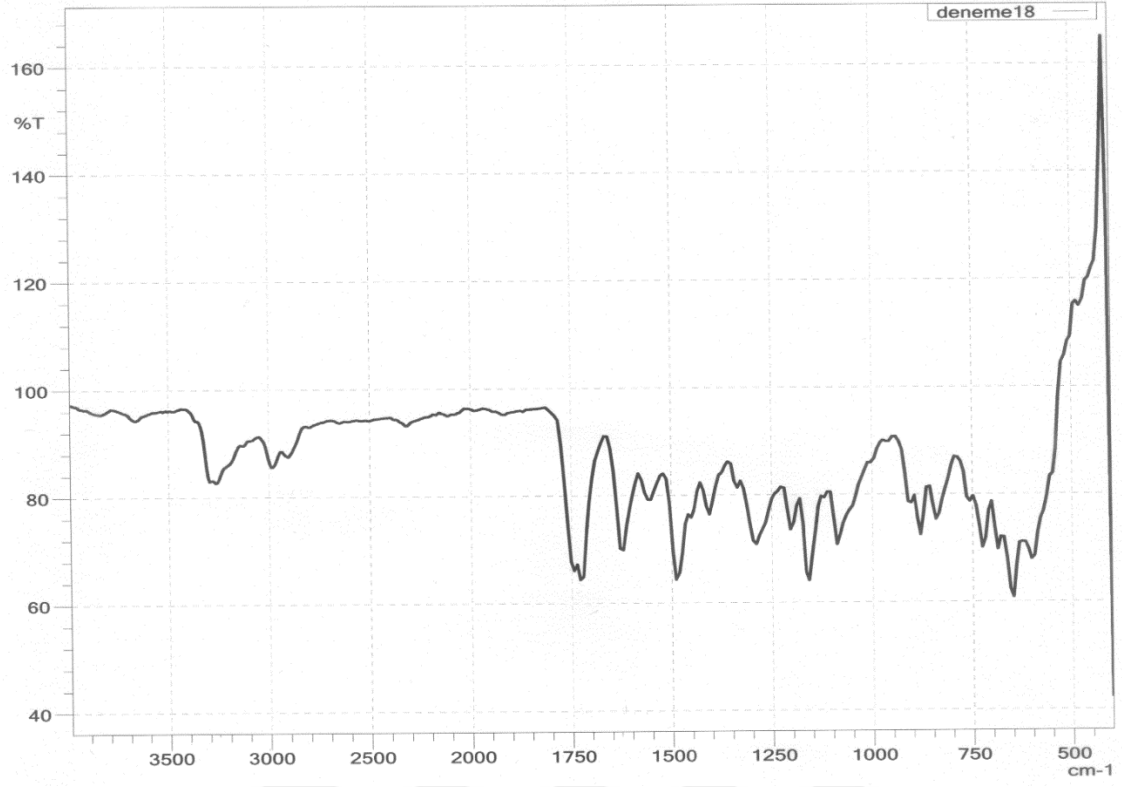
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3250 (NH), 3190 (isatin NH), 1720 (laktam C=O), 1630 (C=O) cm^{-1}

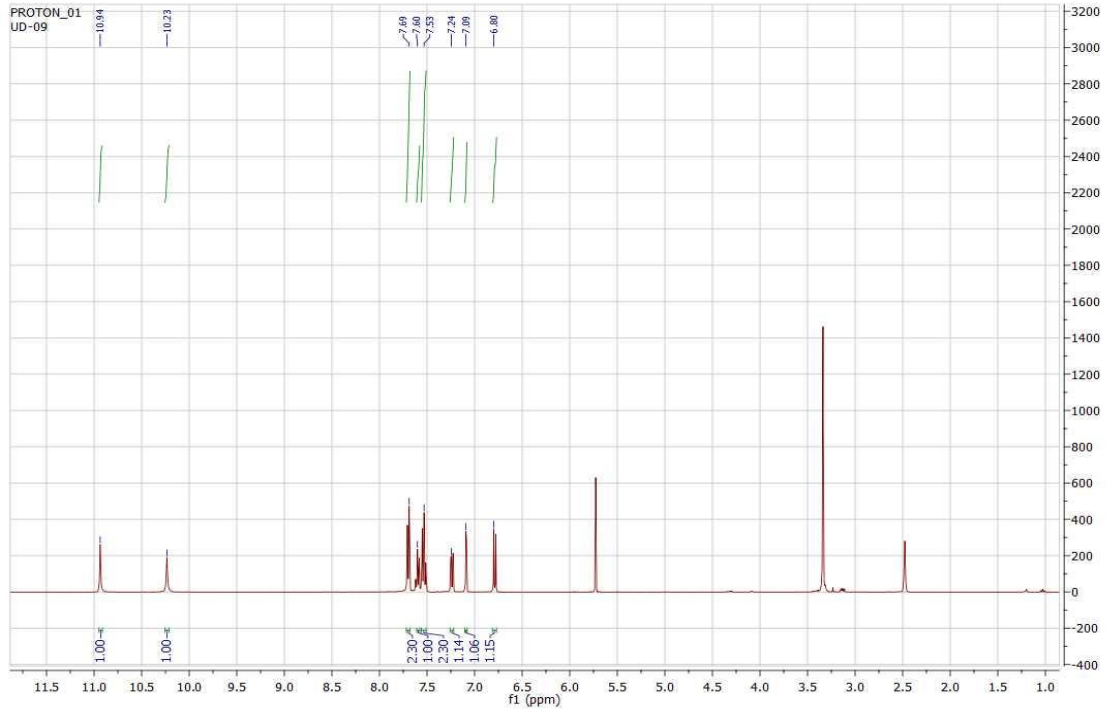
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.94 (s, 1H, NH), 10.23 (s, 1H, NH'), 7.69 (d, J = 7.2 Hz, 2H, Ha, He), 7.60 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H4), 7.53 (t, 2H, Hb, Hd), 7.24 (dd, J = 8.4, 2.3 Hz, 1H, Hc), 7.09 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H6), 6.79 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H7).

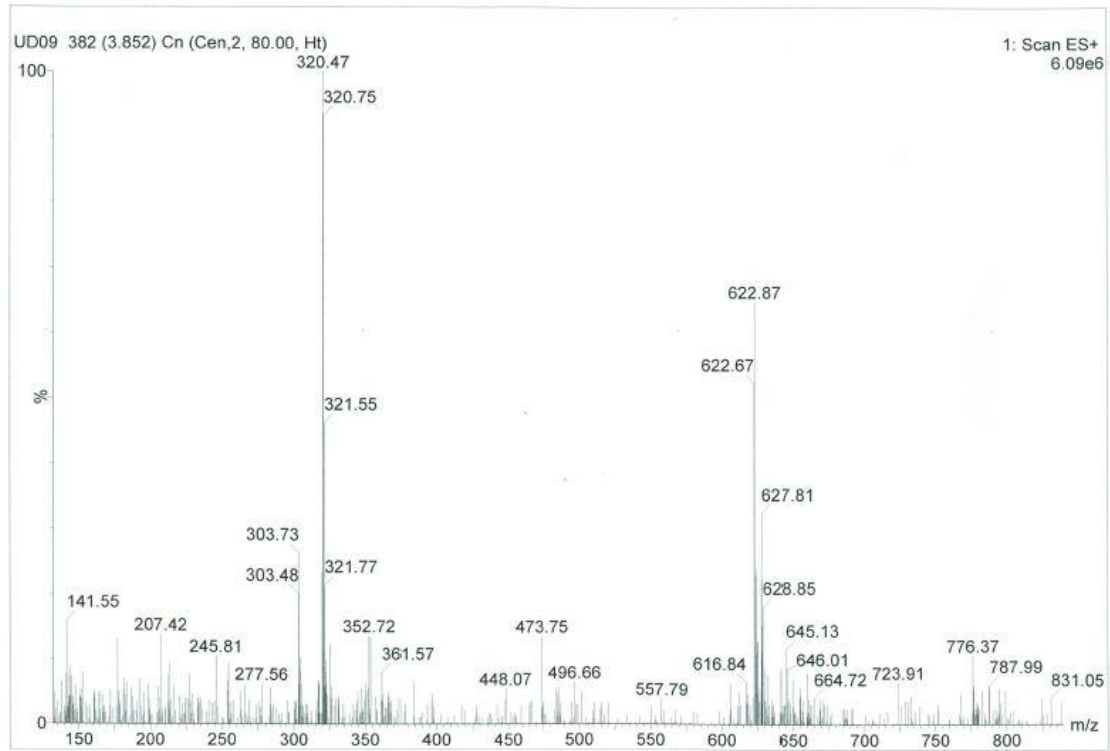
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 320.47 [M+18].



Şekil 4.19: Bileşik 6a'nın IR spektrumu.

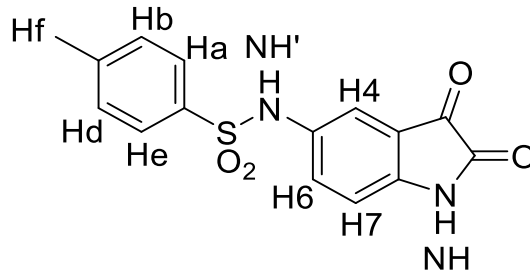


Şekil 4.20: Bileşik 6a'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.21: Bileşik 6a'nın kütle spektrumu.

4.1.10. *N*-(2,3-dioksoindol-5-il)-4-metilbensensülfonamid Sentezi (6b)



Bileşik 4b glasiyel asetik asit-hidroklorik asit karışımında 35 ml (9:1) çözülüp 12 saat 30°C'de karıştırıldı. Sonrasında çözelti soğuk saf su (50 ml) içerisine döküldü. Oluşan çökelek soğuk saf ile yıkandı. Elde edilen katı madde vakum altında kurutularak ürün elde edildi. Verim: %85.

EN: 245-247°C°

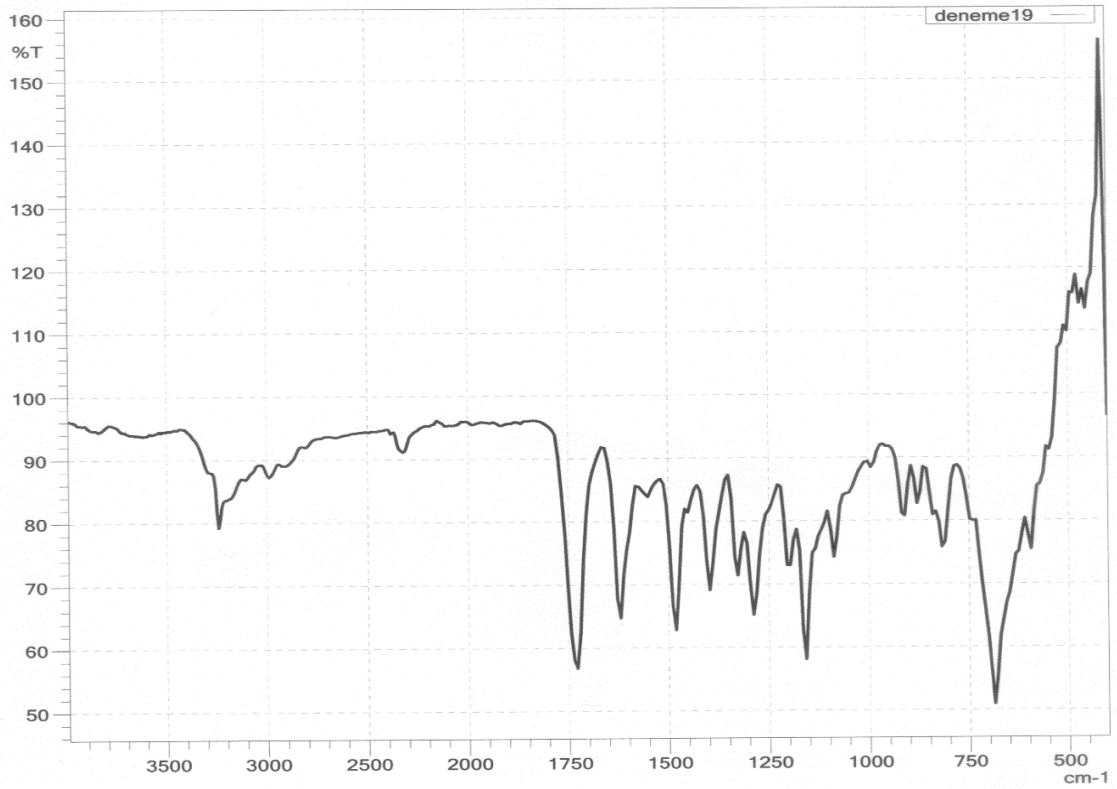
IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3230 (NH), 3190 (isatin NH), 1730 (laktam C=O), 1620 (C=O), cm^{-1}

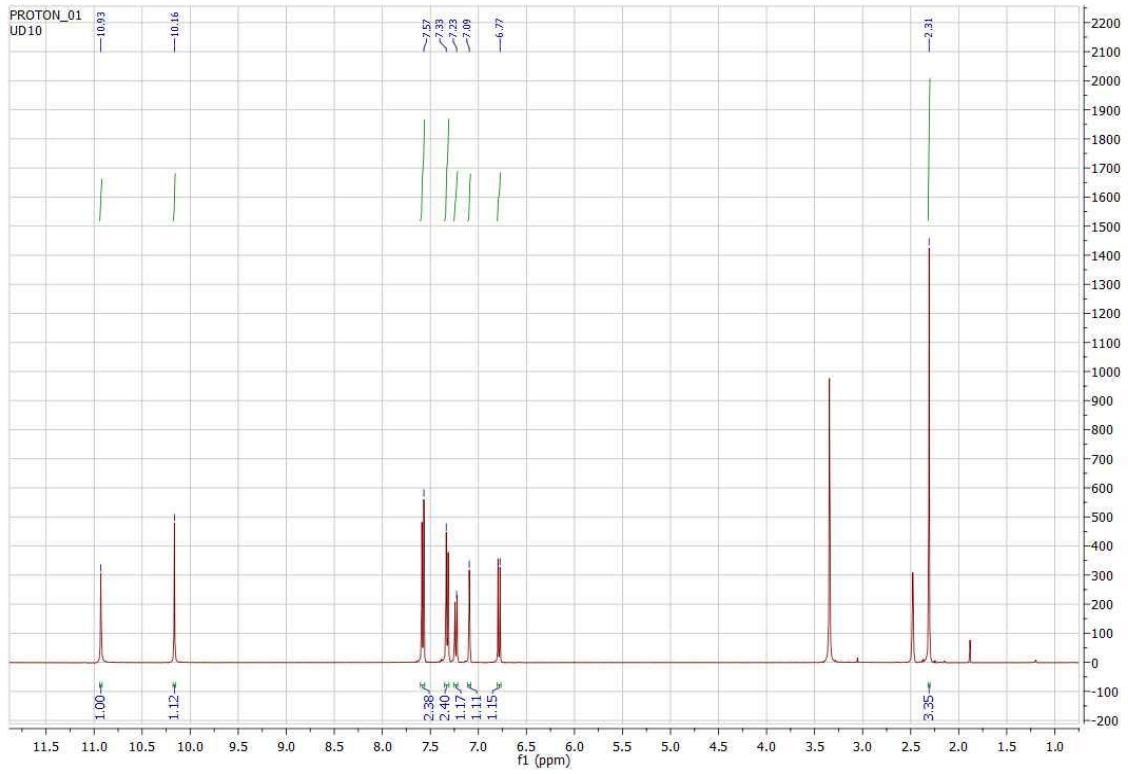
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.93 (s, 1H, NH), 10.16 (s, 1H, NH'), 7.58 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, Ha, He), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, Hb, Hd), 7.23 (dd, *J* = 8.4, 2.3 Hz, 1H, H6), 7.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H4), 6.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H7), 2.31 (s, 3H, Hf).

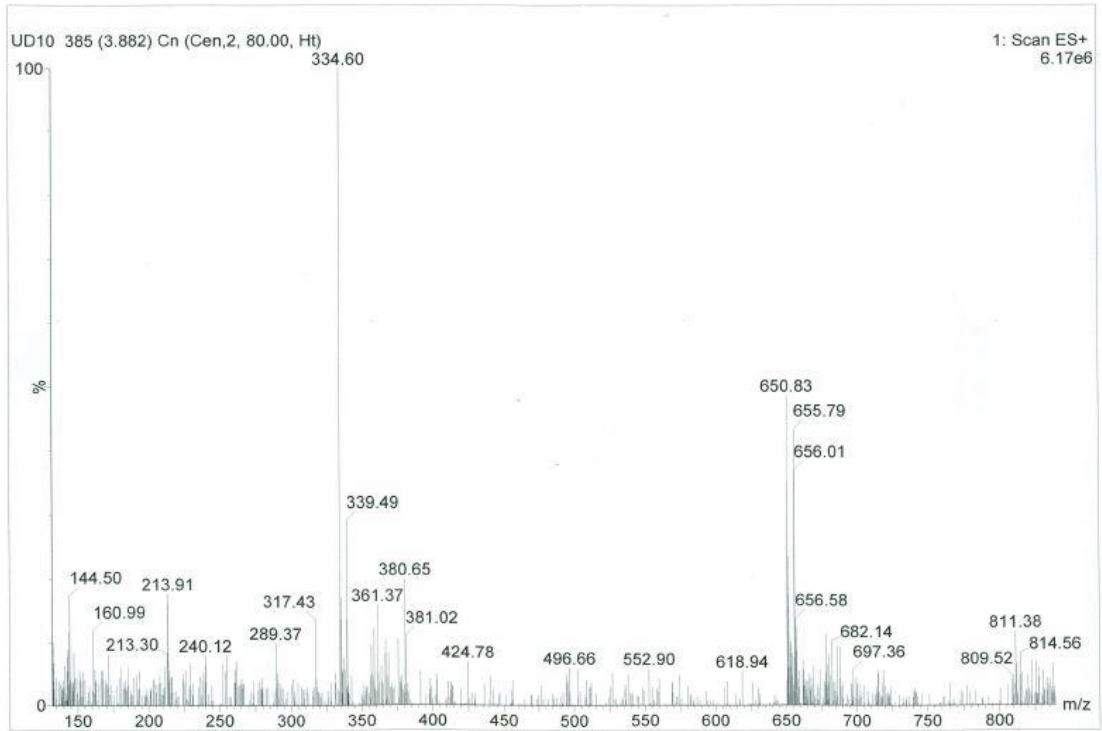
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 334.6 [M+18].



Şekil 4.22: Bileşik 6b'nin IR spektrumu.



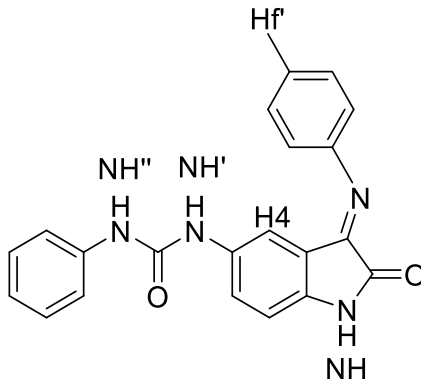
Şekil 4.23: Bileşik 6b'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.24: Bileşik 6b'nin kütle spektrumu.

4.2. SONUÇ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ

4.2.1. (E/Z)-1-(2-okso-3-(*p*-tolilimino)indol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7a)



Bileşik 5a (1 mmol), *p*-toluidin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %66.

EN: 260-264 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3290 (NH), 3180 (isatin NH), 1735 (laktam C=O), 1625 (C=O), 1555 (C=N) cm⁻¹

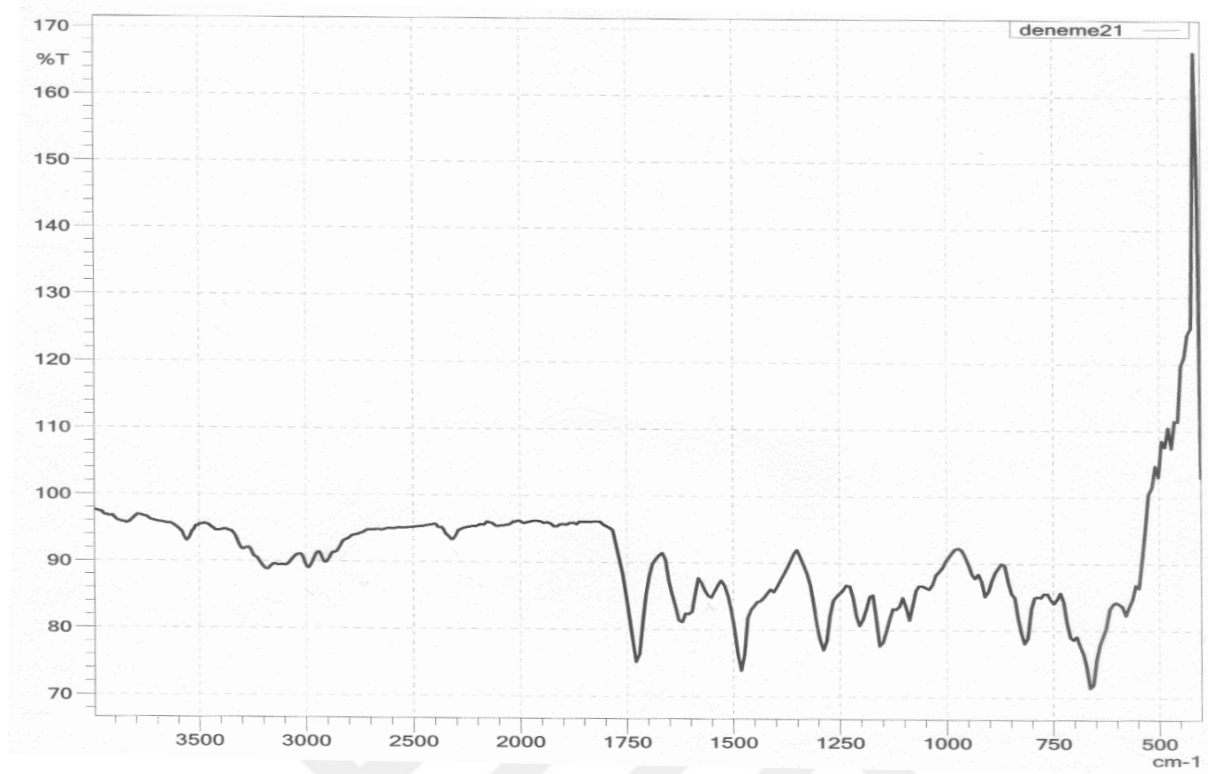
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.84 (s, 1H, NH), 8.45 (s, 1H, NH''), 8.32 (s, 1H, NH'), 7.58 – 7.09 (m, 7H, Ar-H), 6.99 – 6.76 (m, 4H, Ar-H), 6.65 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, Ar-H), 2.34 (s, 3H, Hf').

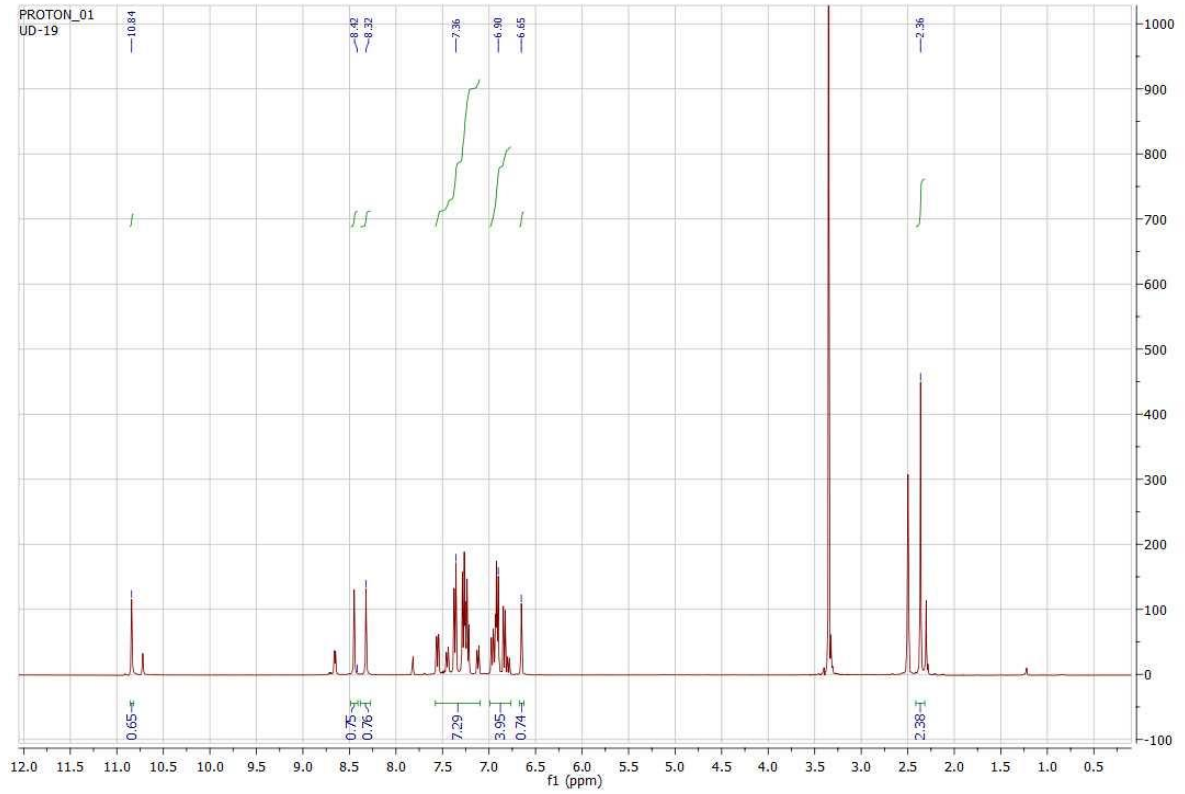
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 164.09 (C=O), 154.93 (N-CO-N), 152.87 (C=N), 147.76 (=N-C), 142.21, 140.10, 134.72, 134.17, 130.50, 129.22, 129.17, 125.68, 122.24, 122.16, 120.22, 118.66, 118.49, 118.08, 117.03, 116.15, 111.89, 21.16 (Me).

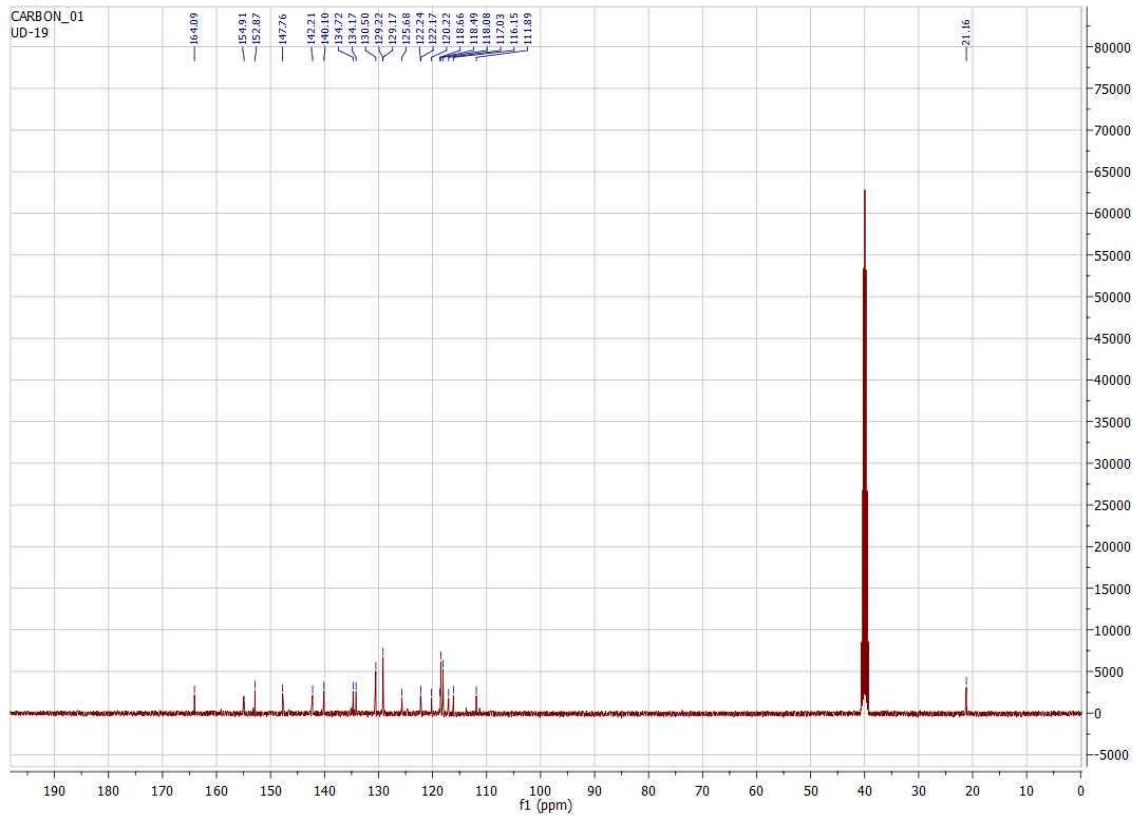
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 371.75 [MH⁺].



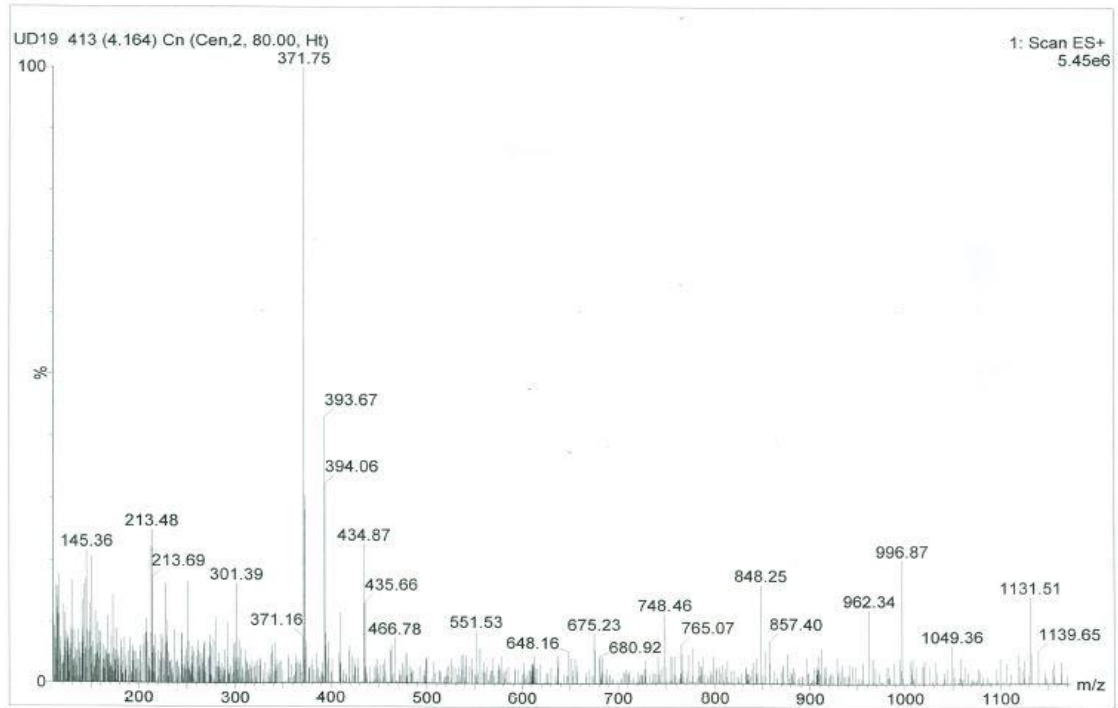
Şekil 4.25: Bileşik 7a'nın IR spektrumu.



Şekil 4.26: Bileşik 7a'nın ¹H-NMR spektrumu.

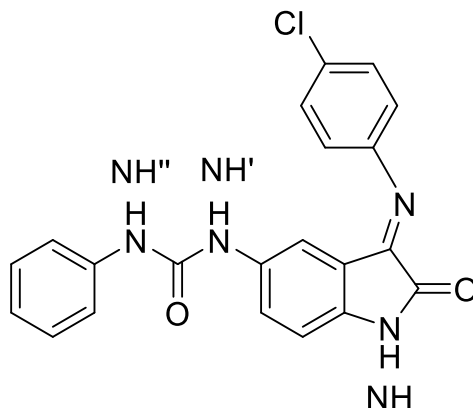


Şekil 4.27: Bileşik 7a'nın ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.28: Bileşik 7a'nin kütle spektrumu

4.2.2. (E/Z)-1-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7b)



Bileşik 5a (1 mmol), *p*-kloroanilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %53.

EN: 271-273°C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3250 (NH), 1740 (laktam C=O), 1630 (C=O), 1550 (C=N) cm⁻¹

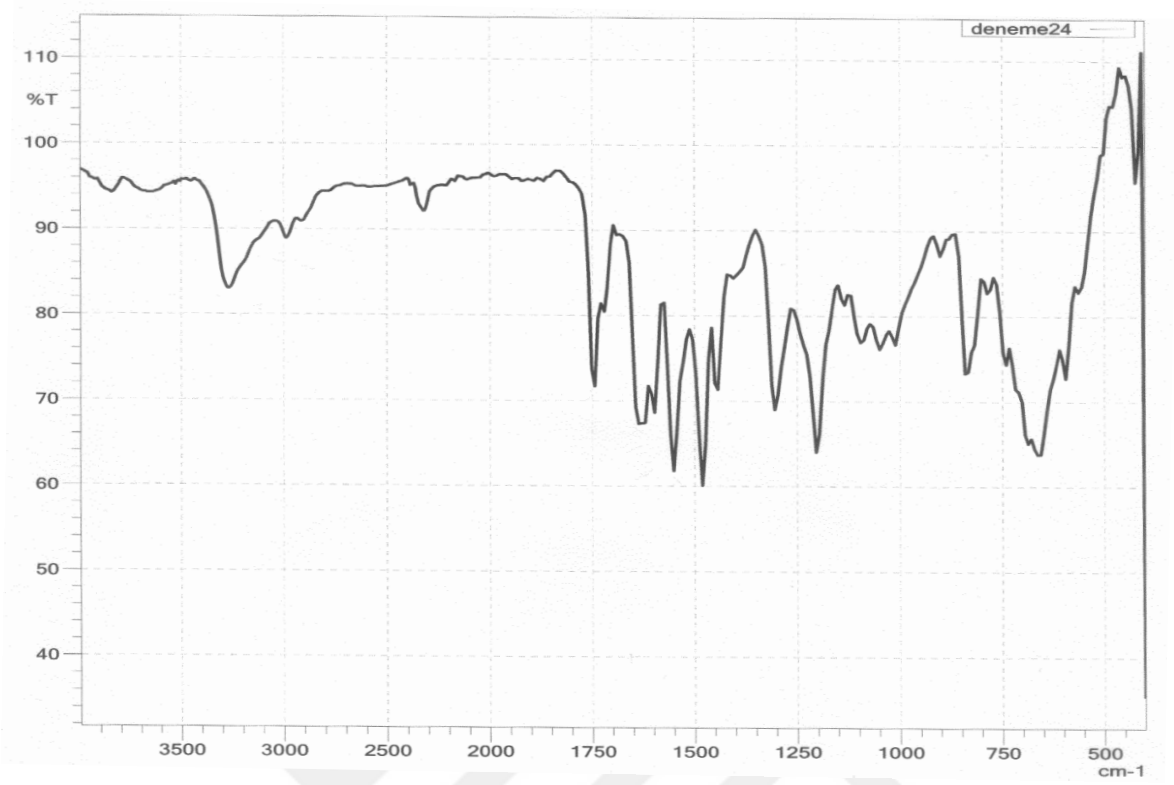
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.89 (s, 1H, NH), 8.48 (s, 1H, NH''), 8.39 (s, 1H, NH'), 7.61 – 7.19 (m, 7H, Ar-H), 7.15 – 6.77 (m, 4H, Ar-H), 6.66 (s, 1H, Ar-H).

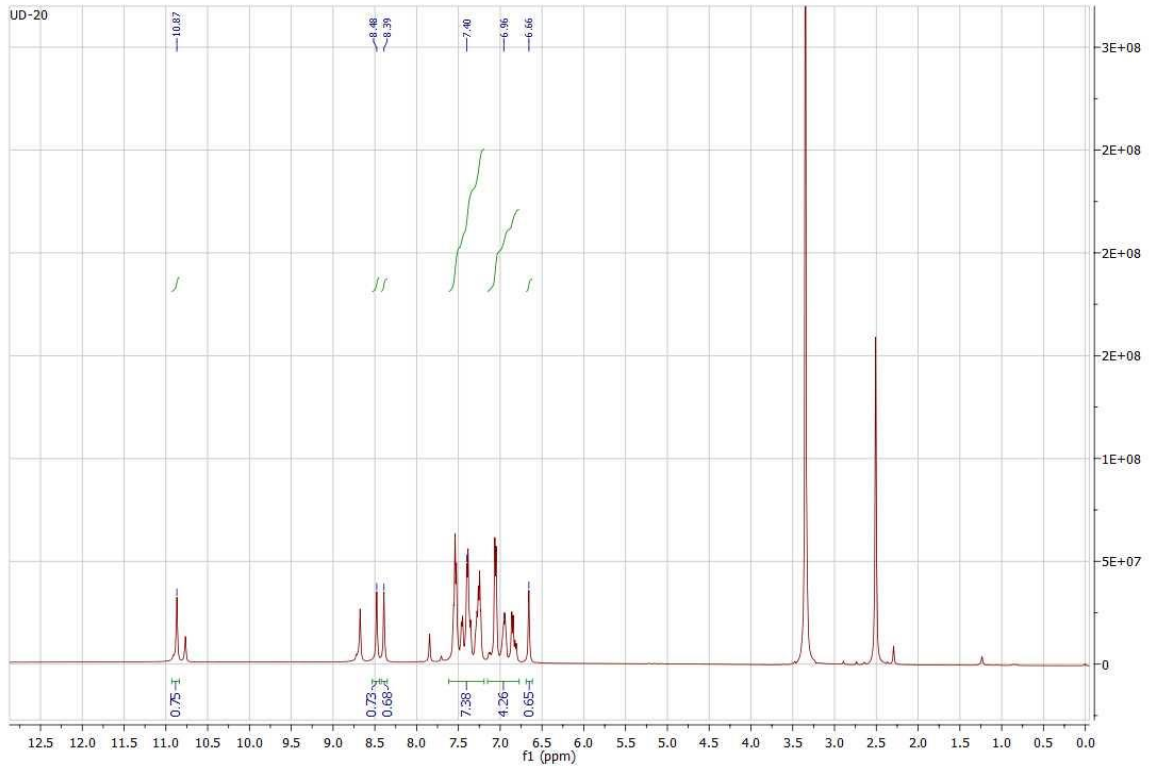
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.91 (C=O), 155.82 (N-CO-N), 152.87 (C=N), 149.25 (=N-C), 142.34, 140.18, 134.42, 130.11, 129.67, 129.23, 129.14, 128.72, 125.73, 122.18, 121.48, 119.89, 118.70, 118.58, 117.00, 116.00, 112.05.

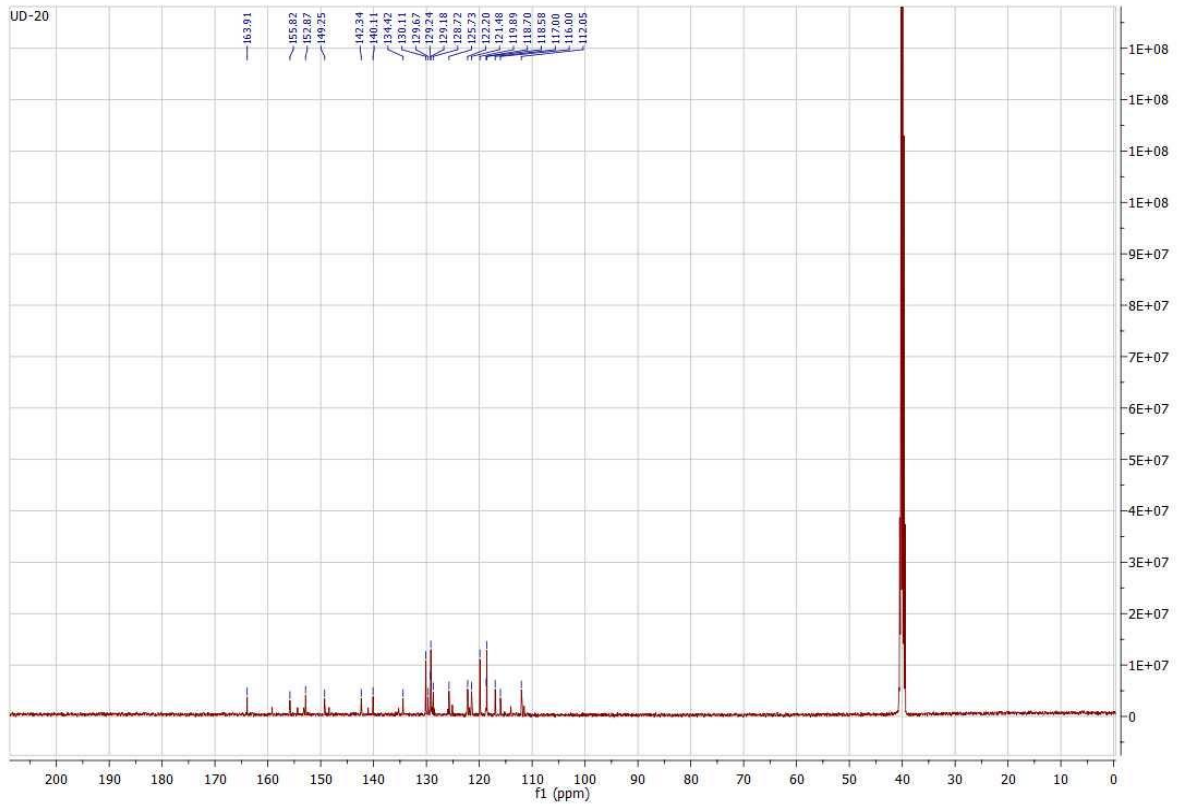
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 391.76 [MH⁺].



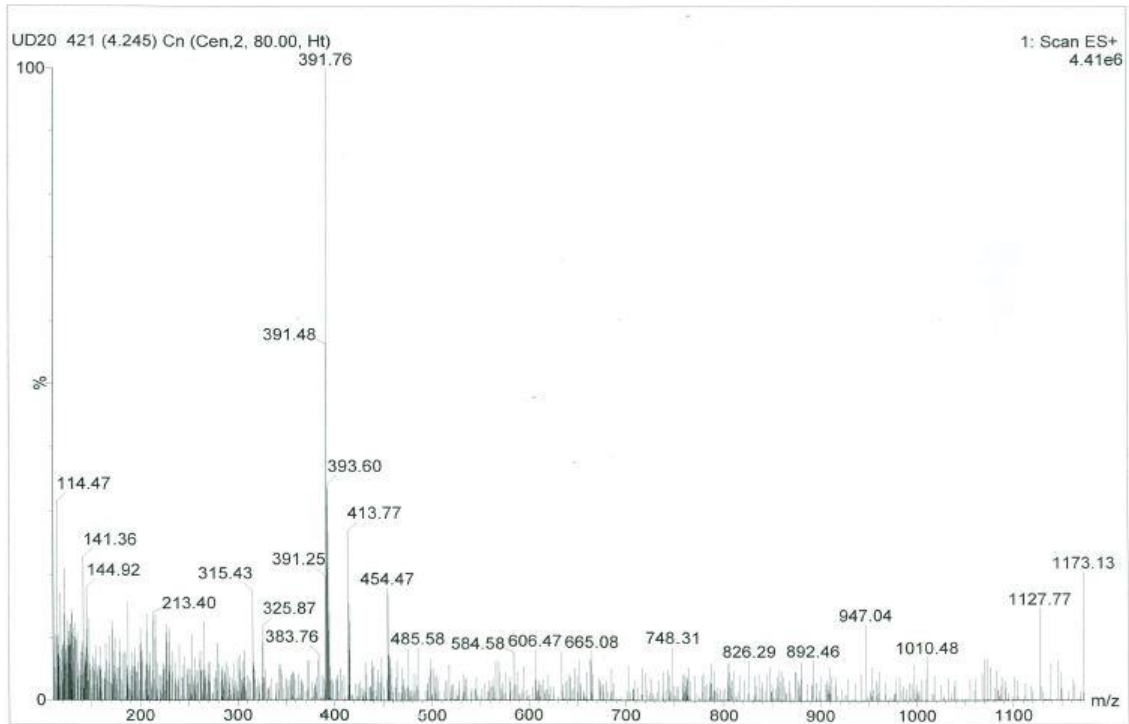
Şekil 4.29: Bileşik 7b'nin IR spektrumu.



Şekil 4.30: Bileşik 7b'nin ^1H -NMR spektrumu.

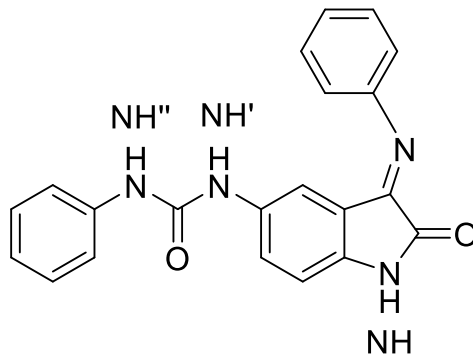


Şekil 4.31: Bileşik 7b'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.32: Bileşik 7b'nin kütle spektrumu

4.2.3. (E/Z)-1-(2-okso-3-(fenilimino)indol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7c)



Bileşik 5a (1 mmol), anilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %58.

EN: 244-247 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3260 (NH), 1745 (laktam C=O), 1620 (C=O), 1550 (C=N) cm⁻¹

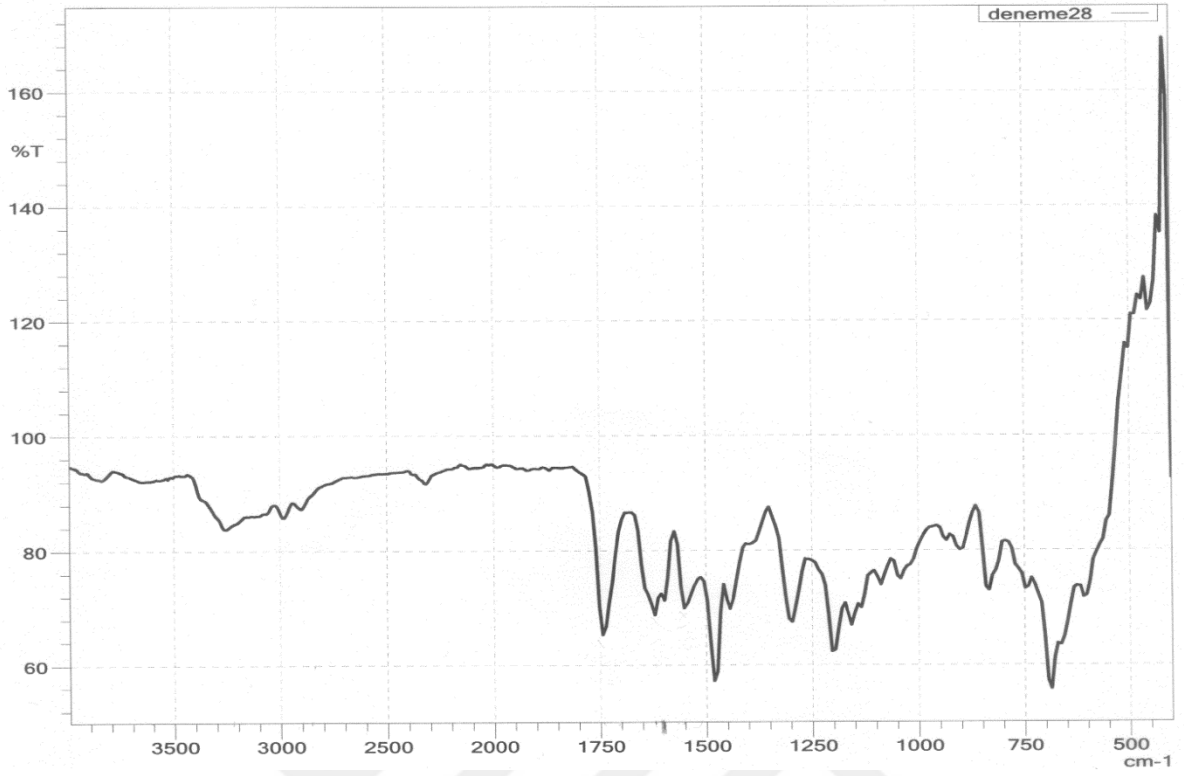
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.87 (s, 1H, NH), 8.48 (s, 1H, NH''), 8.29 (s, 1H, NH'), 7.60 – 7.22 (m, 8H, Ar-H), 7.14 – 6.80 (m, 4H, Ar-H), 6.51 (s, 1H, Ar-H).

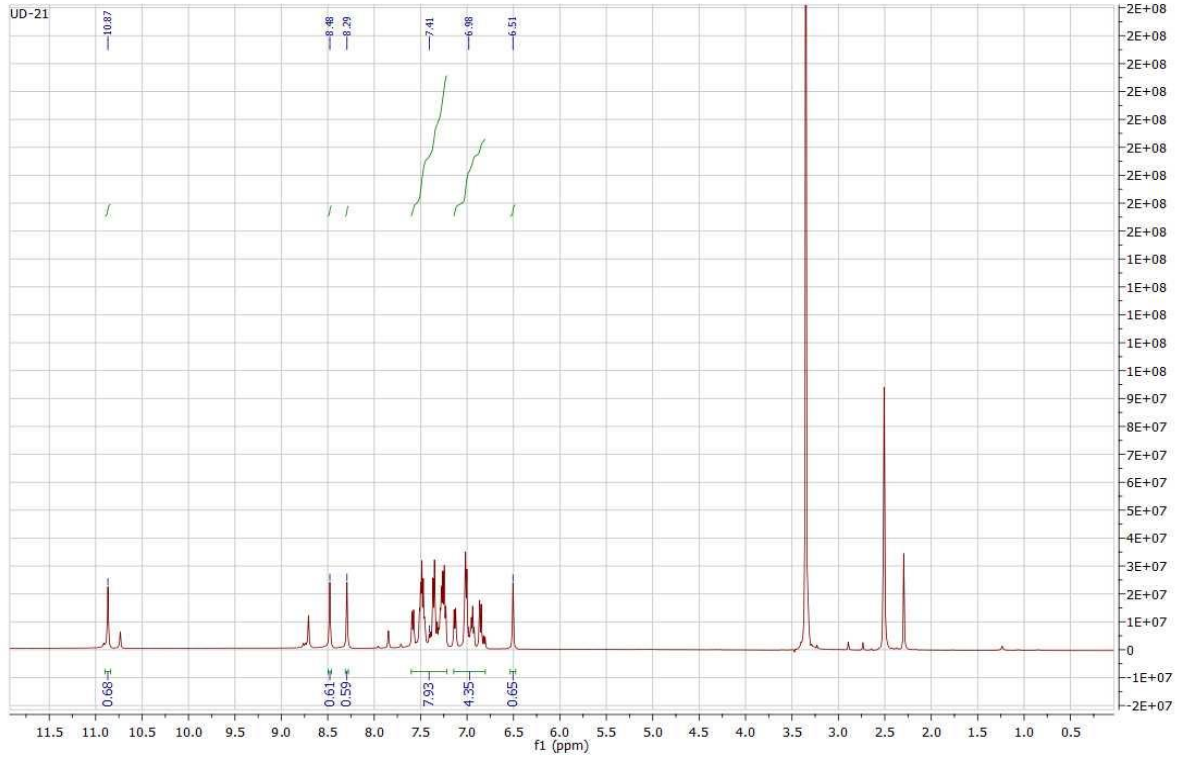
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.04 (C=O), 155.15 (N-CO-N), 152.90 (C=N), 150.44 (=N-C), 142.36, 140.10, 134.22, 130.07, 129.20, 128.77, 128.58, 125.97, 125.55, 122.19, 119.62, 118.69, 118.54, 117.86, 117.21, 116.09, 111.98.

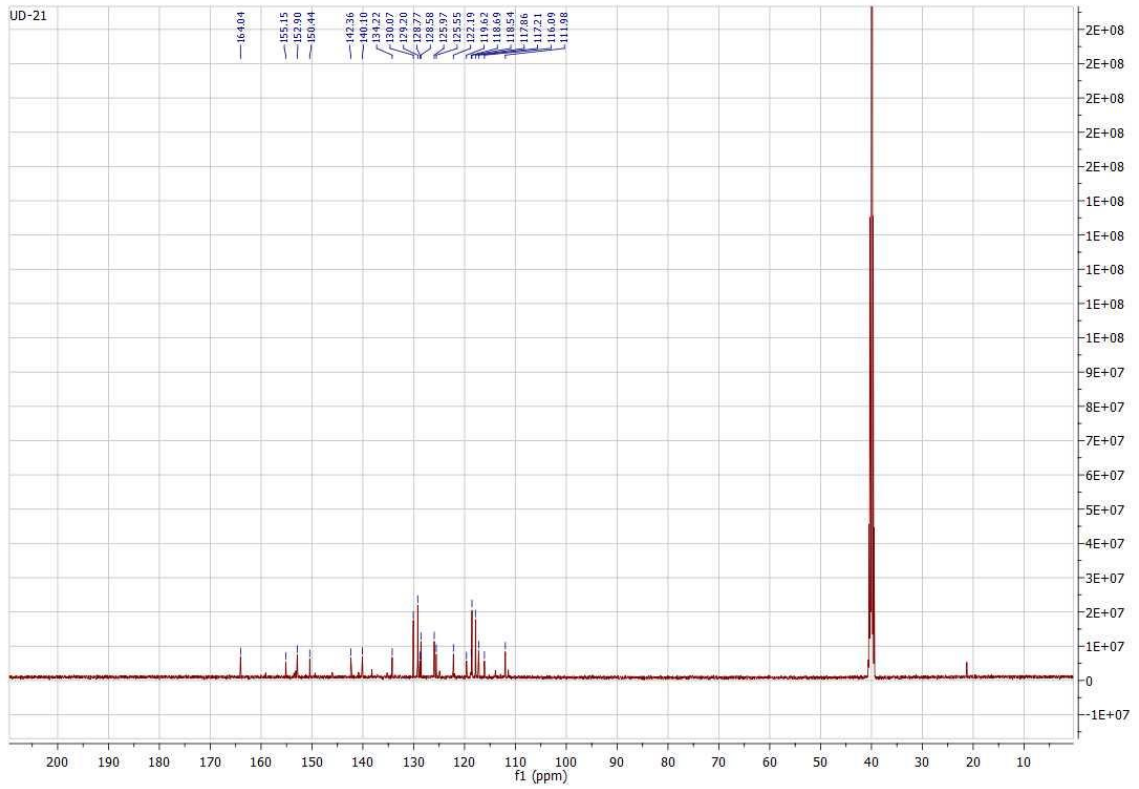
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 357.55 [MH⁺].



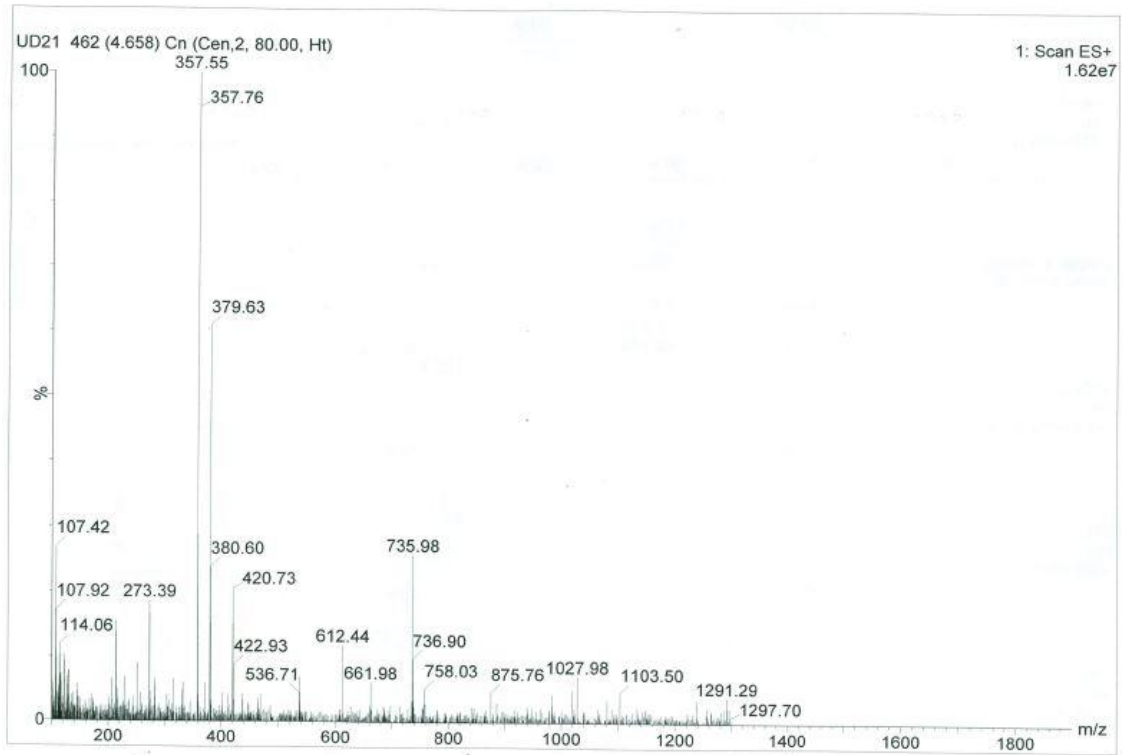
Şekil 4.33: Bileşik 7c'nin IR spektrumu.



Şekil 4.34: Bileşik 7c'nin ^1H -NMR spektrumu.

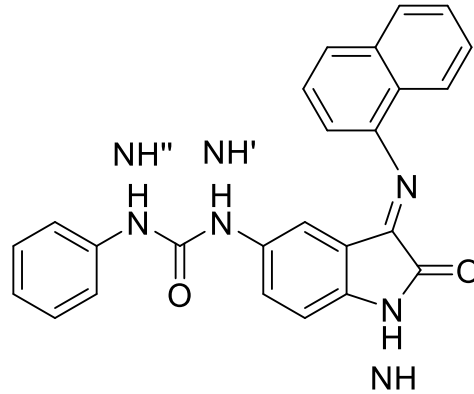


Şekil 4.35: Bileşik 7c'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.36: Bileşik 7c'nin kütle spektrumu

4.2.4. (E/Z)-1-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindol-5-il)-3-fenilüre Sentezi (7d)



Bileşik 5a (1 mmol), α -naftilamin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolla yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %51.

EN: 198-200 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3210 (NH), 1730 (laktam C=O), 1620 (C=O), 1560 (C=N) cm⁻¹

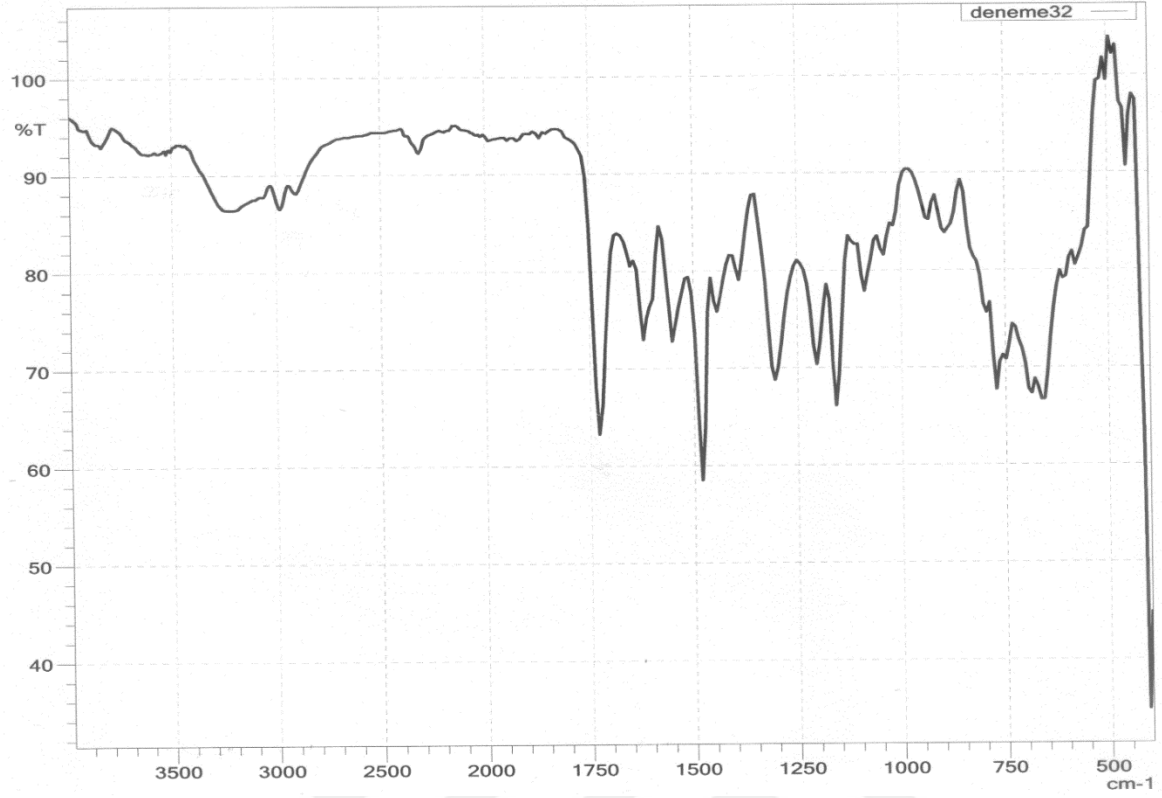
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.94 (s, 1H, NH), 8.35 (s, 1H, NH''), 8.16 (s, 1H, NH'), 8.02 – 7.66 (m, 3H, Ar-H), 7.61 – 7.40 (m, 5H, Ar-H), 7.32 – 7.17 (m, 3H, Ar-H), 7.09 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, Ar-H), 6.97 – 6.82 (m, 2H, Ar-H), 6.30 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, Ar-H).

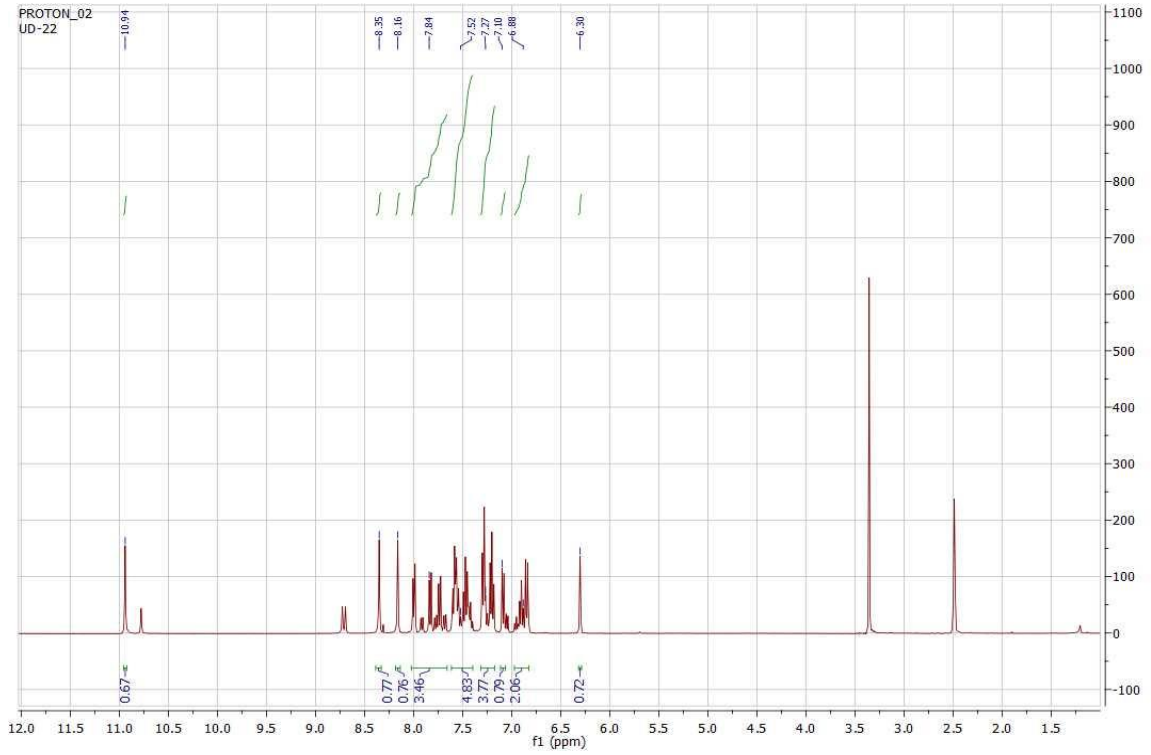
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.84 (C=O), 156.09 (N-CO-N), 152.76 (C=N), 146.61 (=N-C), 142.49, 139.98, 134.24, 134.20, 129.23, 129.15, 128.58, 127.21, 126.57, 126.11, 125.89, 125.53, 124.47, 123.40, 122.15, 118.69, 118.49, 116.63, 116.17, 112.23, 112.04.

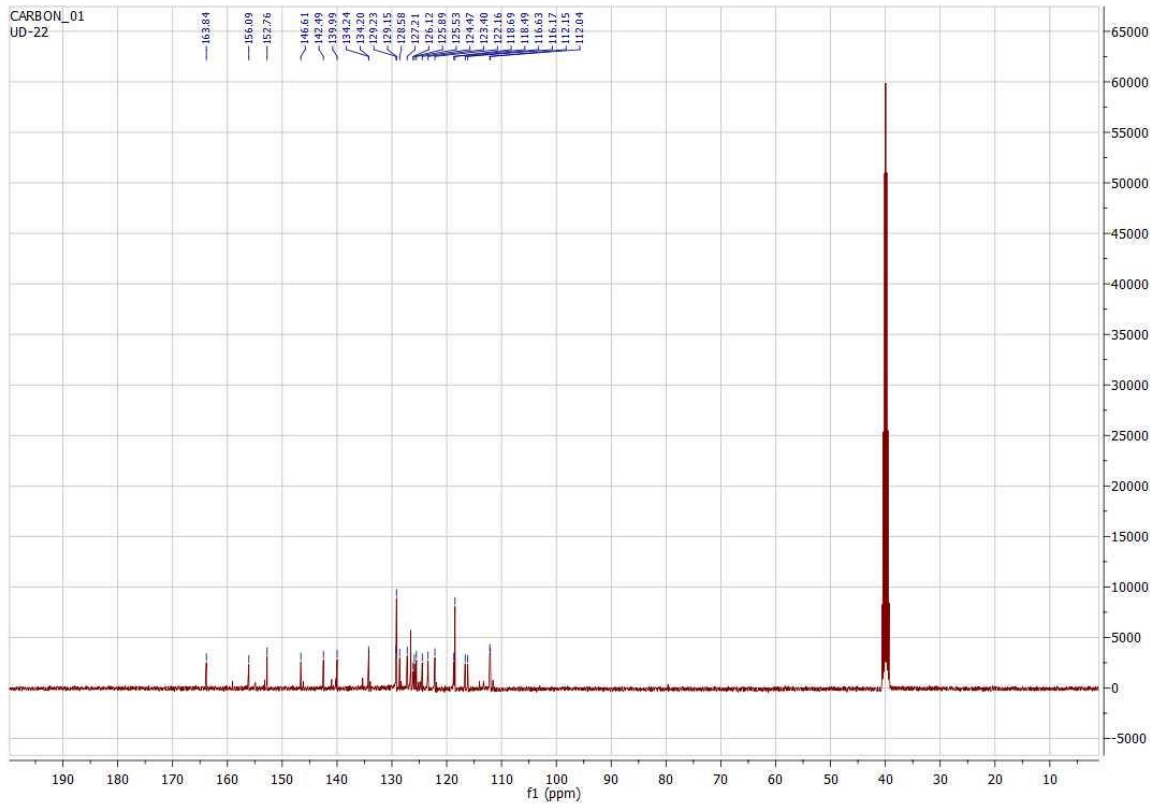
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 407.63 [MH⁺].



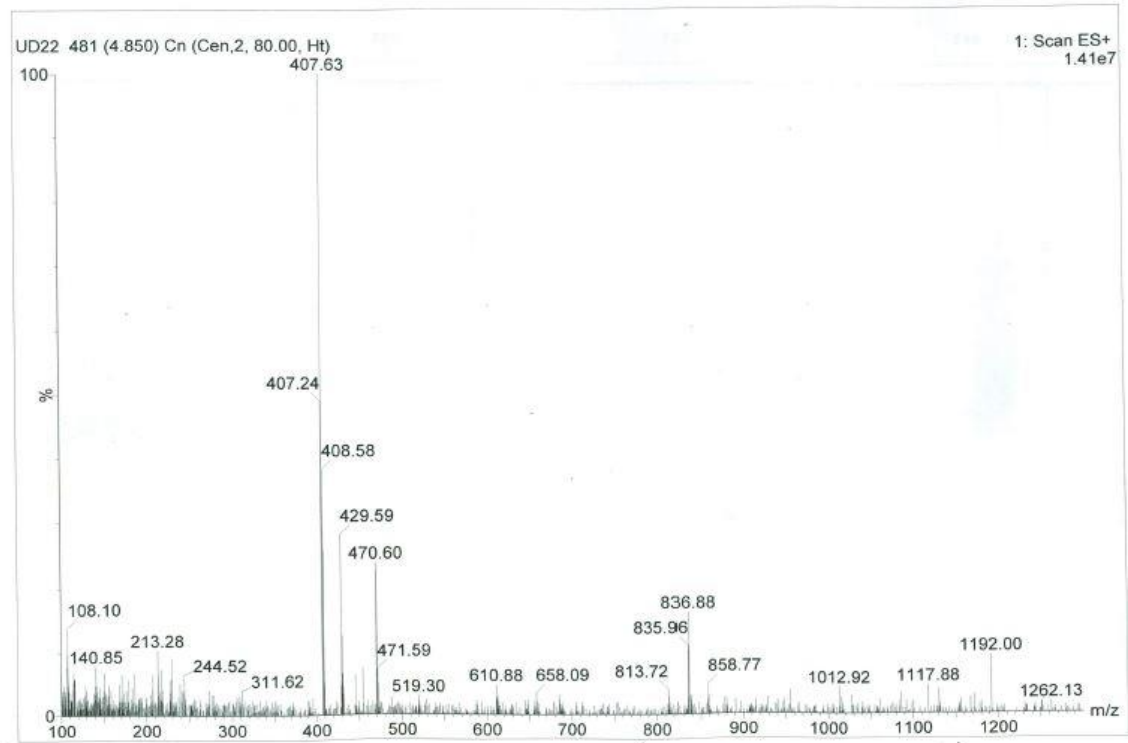
Şekil 4.37: Bileşik 7d'nin IR spektrumu.



Şekil 4.38: Bileşik 7d'nin ^1H -NMR spektrumu.

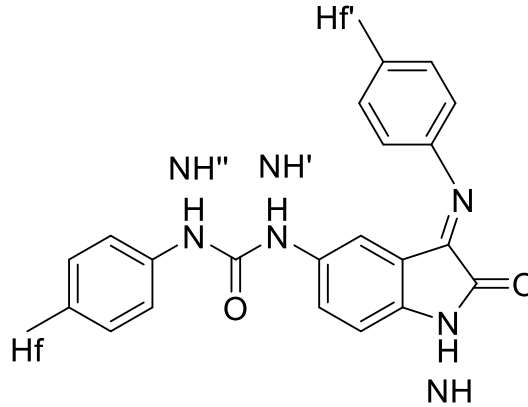


Şekil 4.39: Bileşik 7d'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.40: Bileşik 7d'nin kütle spektrumu.

4.2.5. (E/Z)-1-(2-okso-3-(*p*-tolilimino)indolin-5-il)-3-(*p*-tolil)üre Sentezi (7e)



Bileşik 5b (1 mmol), *p*-toluidin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %64.

EN: 288-290 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3260 (NH), 3140 (isatin NH), 1750 (laktam C=O), 1620 (C=O), 1555 (C=N) cm⁻¹

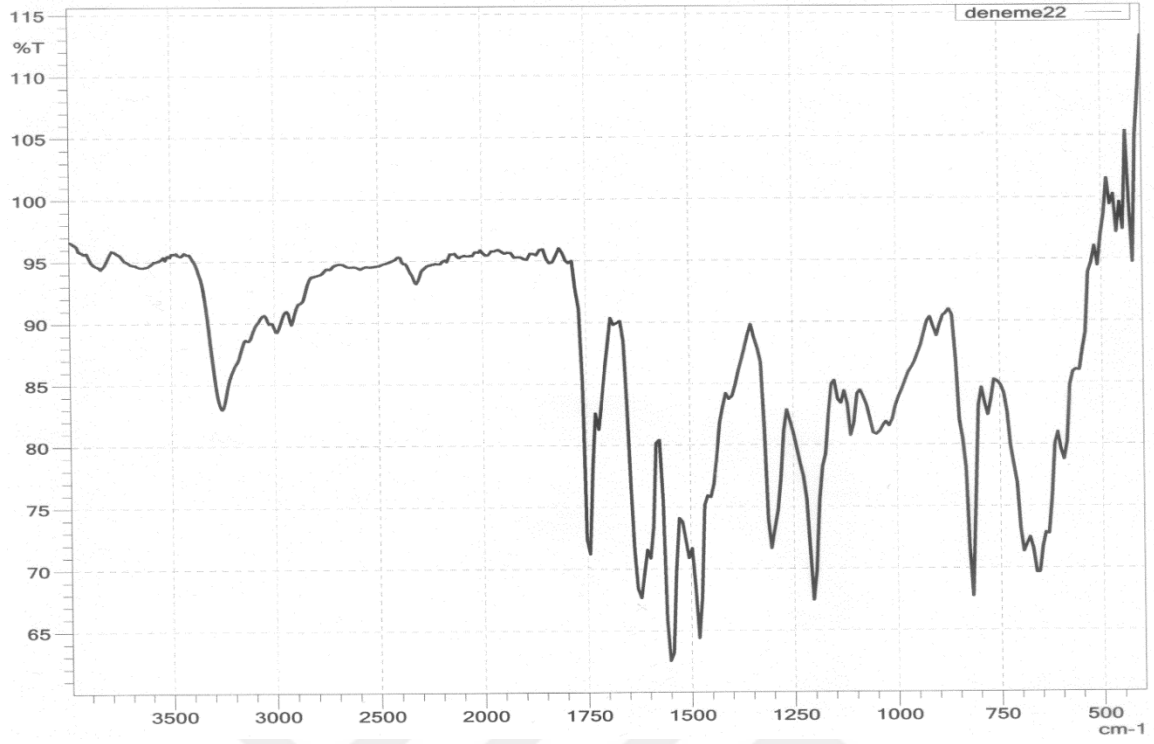
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.83 (s, 1H, NH), 8.34 (s, 1H, NH''), 8.27 (s, 1H, NH'), 7.55 (d, 1H, Ar-H), 7.42 – 7.21 (m, 4H, Ar-H), 7.17 – 6.75 (m, 5H, Ar-H), 6.66 (s, 1H, Ar-H), 2.37 (s, 3H, Hf'), 2.23 (s, 3H, Hf).

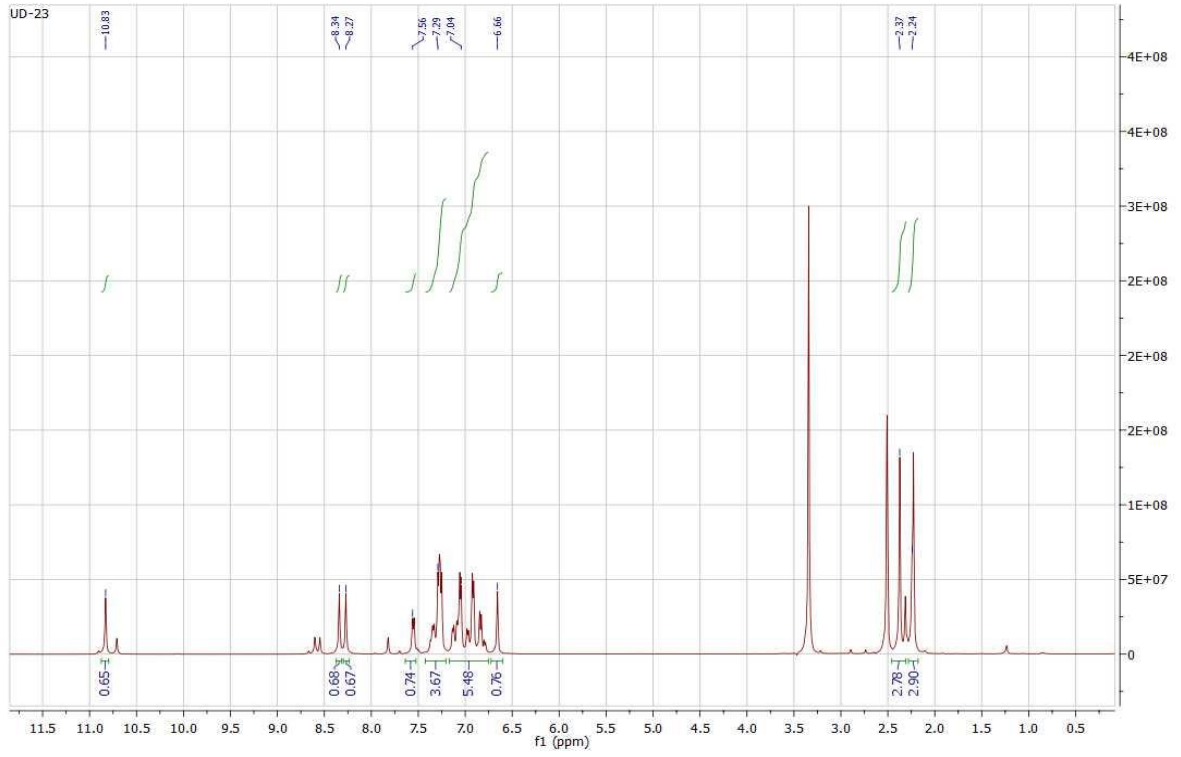
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.11 (C=O), 154.96 (N-CO-N), 152.93(C=N), 147.78 (=N-C), 142.16, 137.54, 134.73, 134.30, 130.99, 130.51, 129.62, 129.57, 129.23, 125.65, 120.24, 118.80, 118.62, 118.10, 117.00, 116.15, 111.88, 21.17 (Me), 20.77 (Me).

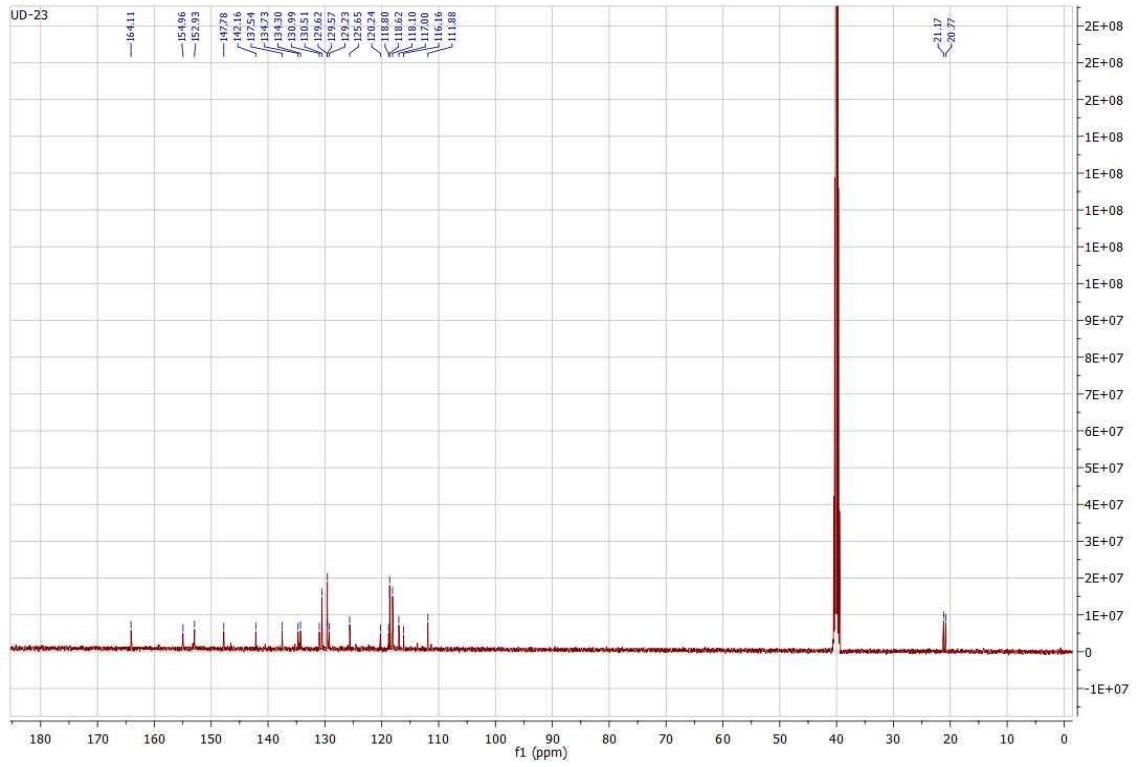
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 385.74 [MH⁺].



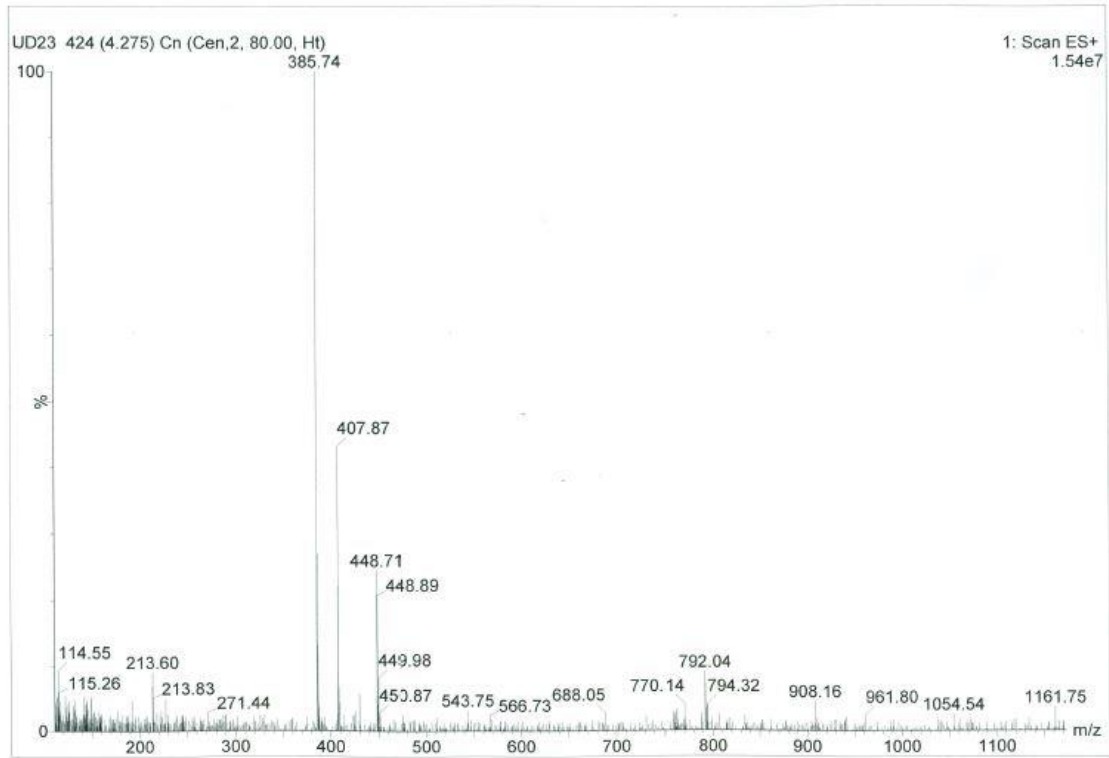
Şekil 4.41: Bileşik 7e'nin IR spektrumu.



Şekil 4.42: Bileşik 7e'nin ¹H-NMR spektrumu.

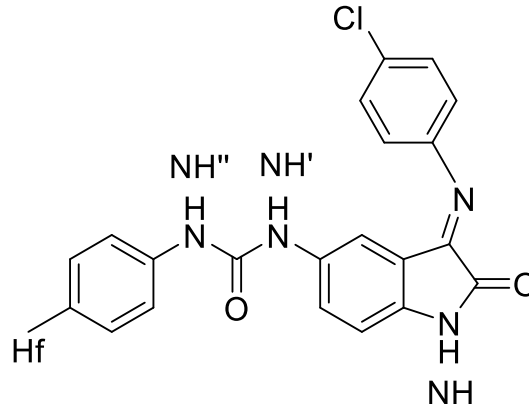


Şekil 4.43: Bileşik 7e'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.44: Bileşik 7e'nin kütle spektrumu

4.2.6. (E/Z)-1-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)-3-(p-tolil)üre Sentezi (7f)



Bileşik 5b (1 mmol), *p*-kloroanilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %52.

EN: 298-301 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3250 (NH), 3140 (isatin NH), 1740 (laktam C=O), 1620 (C=O), 1555 (C=N) cm⁻¹

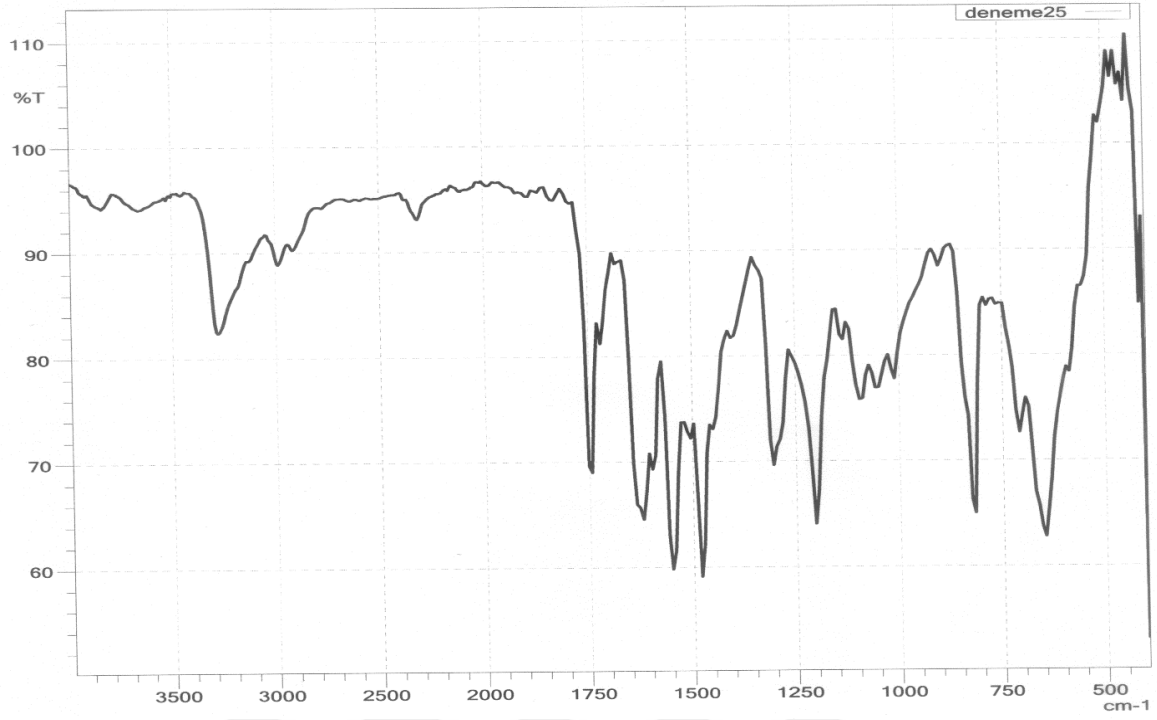
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.85 (s, 1H, NH), 8.36 (s, 1H, NH''), 8.33 (s, 1H, NH'), 7.53 (t, 2H, Ar-H), 7.44 – 7.20 (m, 3H, Ar-H), 7.16 – 6.95 (m, 4H, Ar-H), 6.91 – 6.75 (m, 1H, Ar-H), 6.65 (s, 1H, Ar-H), 2.26 (s, 3H, Hf).

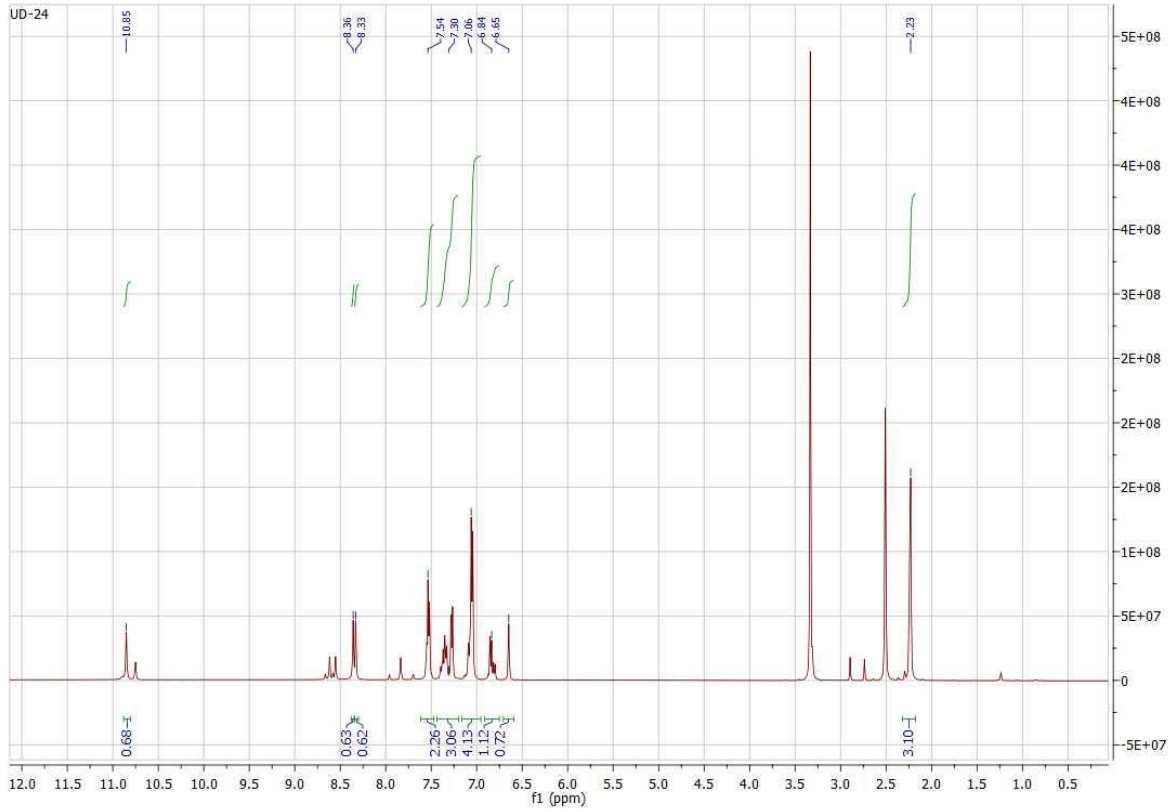
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.90 (C=O), 155.83 (N-CO-N), 152.91 (C=N), 149.26 (=N-C), 142.27, 137.52, 134.52, 131.02, 130.10, 129.66, 129.62, 129.57, 128.72, 125.68, 121.48, 119.89, 118.82, 118.68, 116.94, 116.00, 112.03, 20.78 (Me).

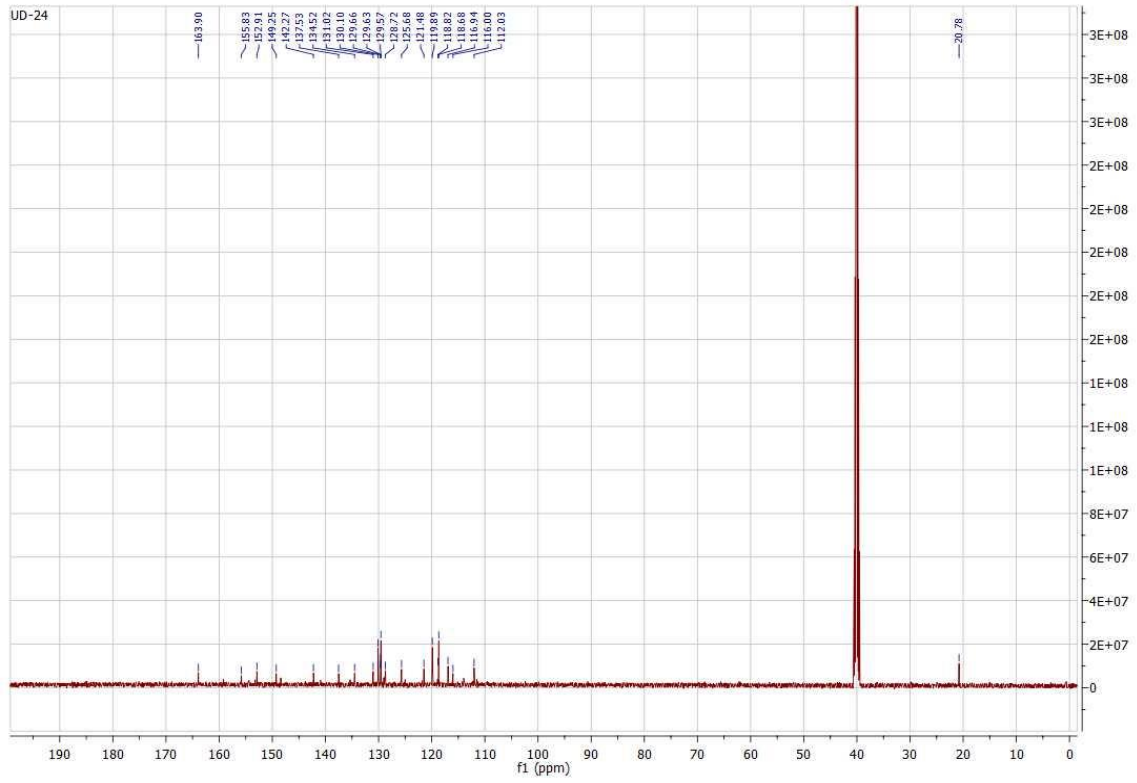
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 405.68 [MH⁺].



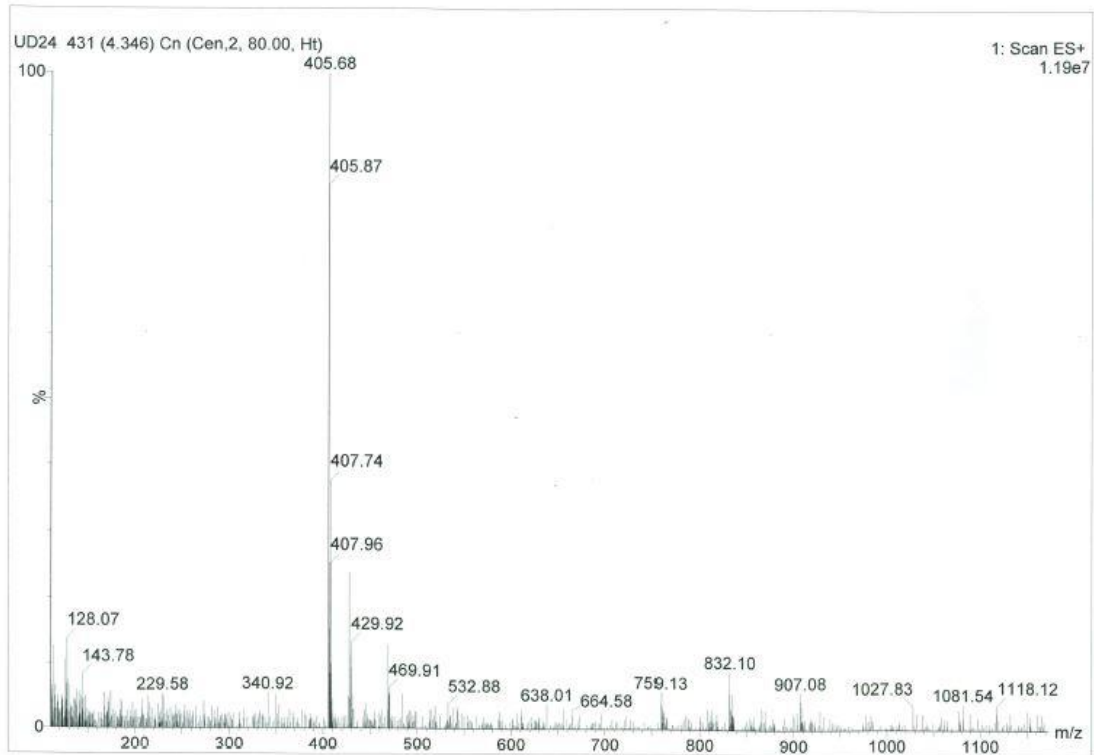
Şekil 4.45: Bileşik 7f'nin IR spektrumu.



Şekil 4.46: Bileşik 7f'nin ^1H -NMR spektrumu.

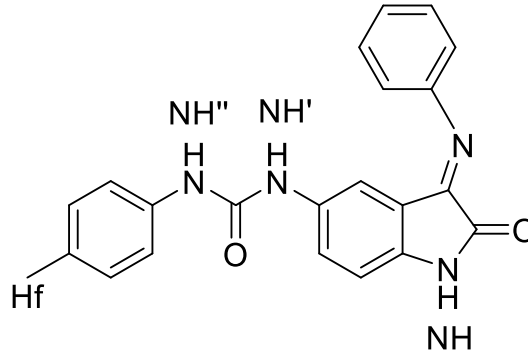


Şekil 4.47: Bileşik 7f'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.48: Bileşik 7f'nin kütle spektrumu

4.2.7. (E/Z)-1-(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)-3-(p-tolil)üre Sentezi (7g)



Bileşik 5b (1 mmol), anilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %55.

EN: 274-276 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3220 (NH), 3150 (isatin NH), 1745 (laktam C=O), 1610 (C=O), 1550 (C=N) cm⁻¹

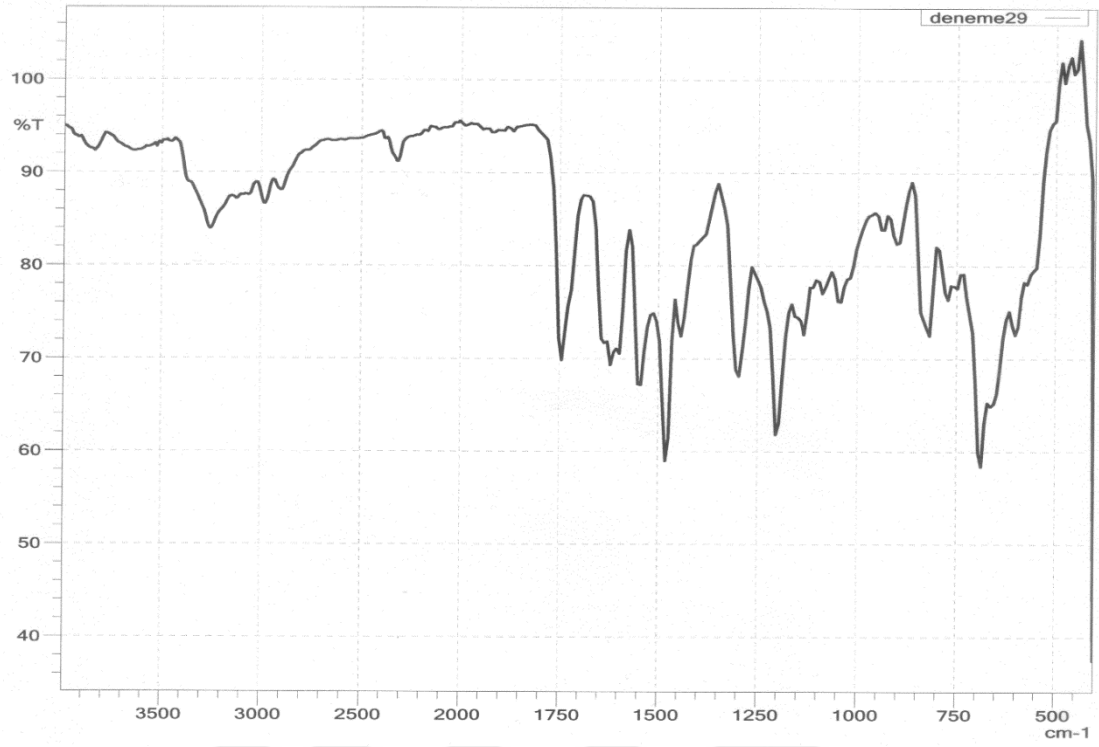
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.85 (s, 1H, NH), 8.34 (s, 1H, NH''), 8.21 (s, 1H, NH'), 7.64 – 7.44 (m, 2H, Ar-H), 7.41 – 7.20 (m, 4H, Ar-H), 7.18 – 6.95 (m, 4H, Ar-H), 6.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 6.47 (s, 1H, Ar-H), 2.23 (s, 3H, Hf).

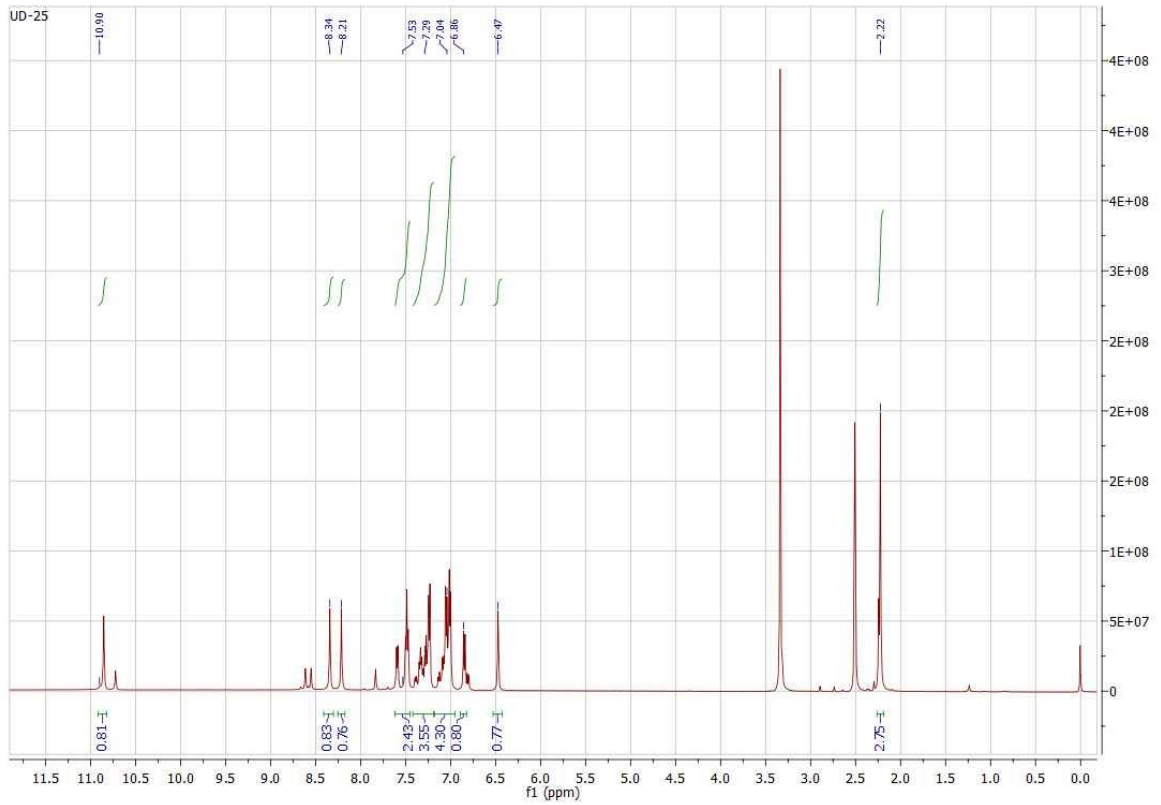
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.03 (C=O), 155.15 (N-CO-N), 152.95 (C=N), 150.45 (=N-C), 142.29, 137.50, 134.31, 131.02, 130.06, 129.62, 129.59, 128.77, 125.86, 125.54, 119.62, 118.82, 118.67, 117.85, 117.14, 116.08, 111.96, 20.78 (Me).

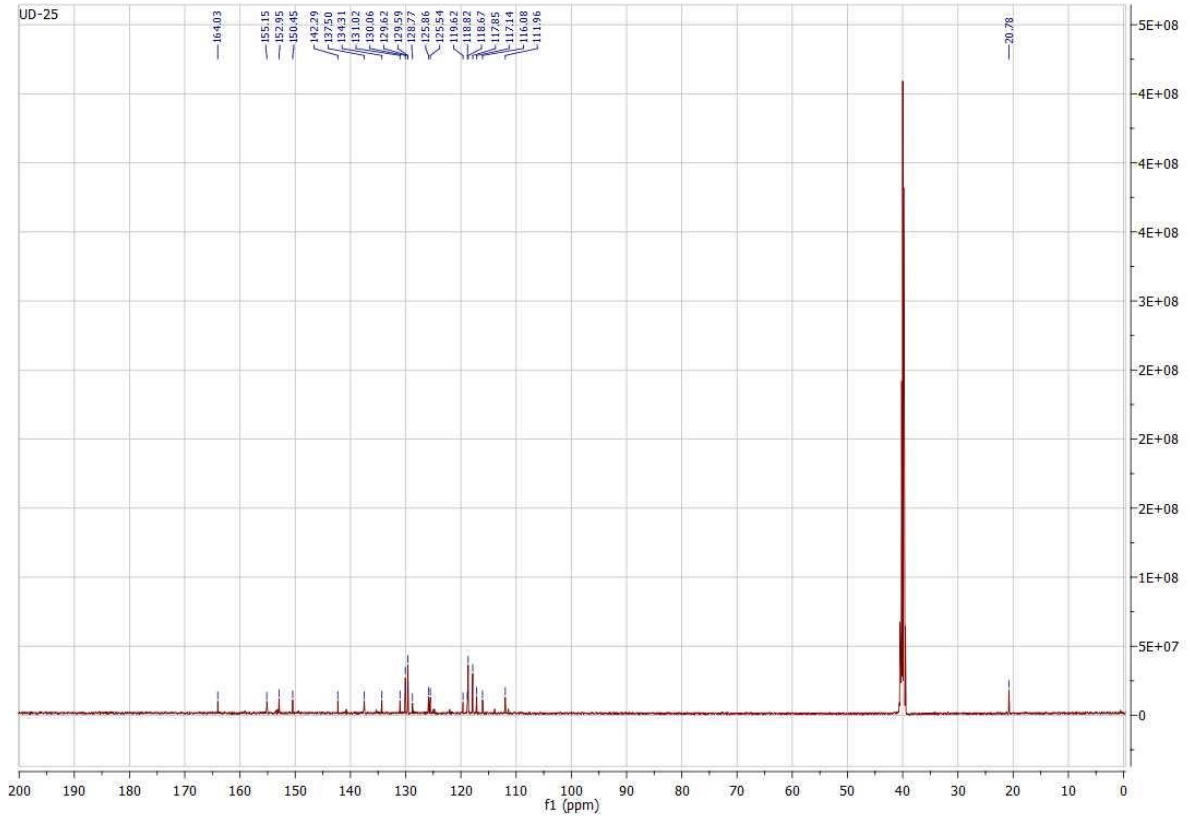
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 371.72 [MH⁺].



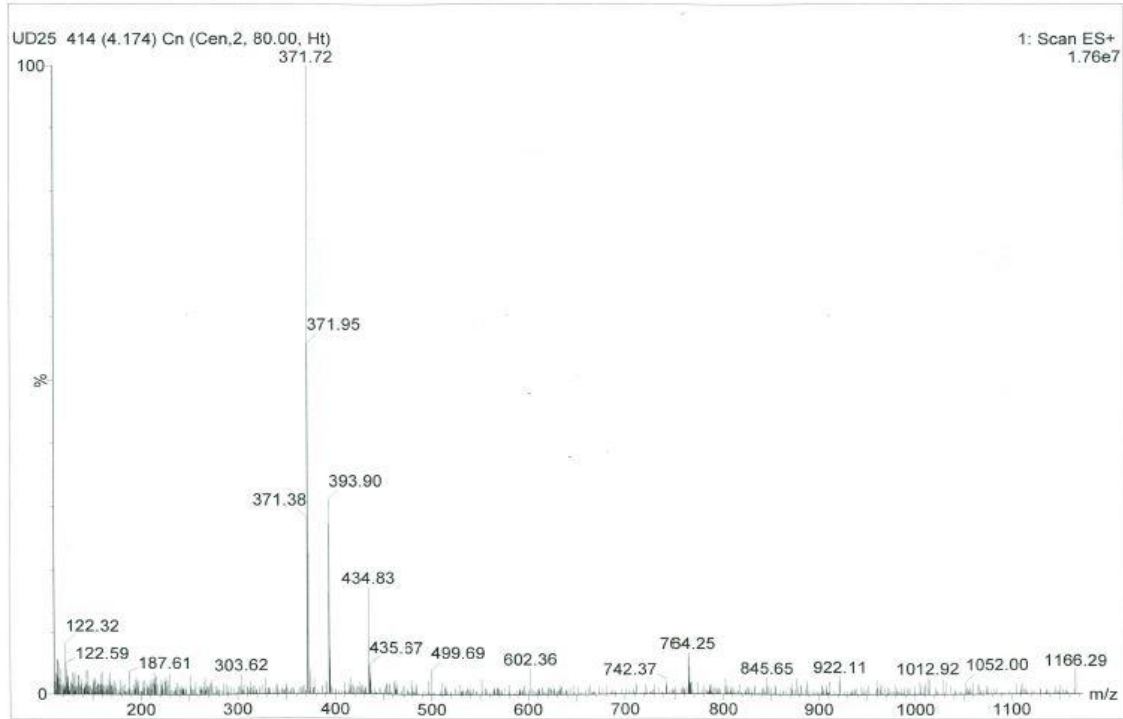
Şekil 4.49: Bileşik 7g'nin IR spektrumu.



Şekil 4.50: Bileşik 7g'nin ^1H -NMR spektrumu.

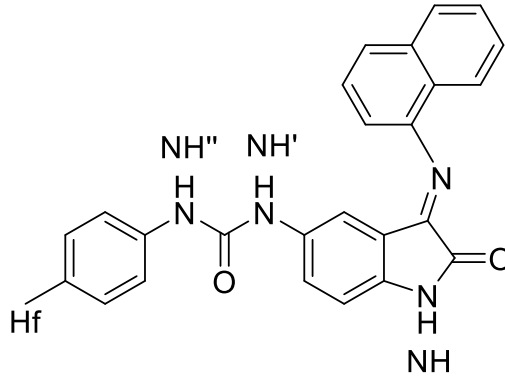


Şekil 4.51: Bileşik 7g'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.52: Bileşik 7g'nin kütle spektrumu

4.2.8. (E/Z)-1-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)-3-(p-tolil)üre Sentezi (7h)



Bileşik 5b (1 mmol), α -naftilamin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) DMF (10 ml) içerisinde çözüldü çözeltiye bir miktar moleküler sieve ilave edildi. Çözelti 24 saat 50 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %52.

EN: 240-242 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3260 (NH), 3180 (isatin NH), 1740 (laktam C=O), 1620 (C=O), 1550 (C=N) cm⁻¹

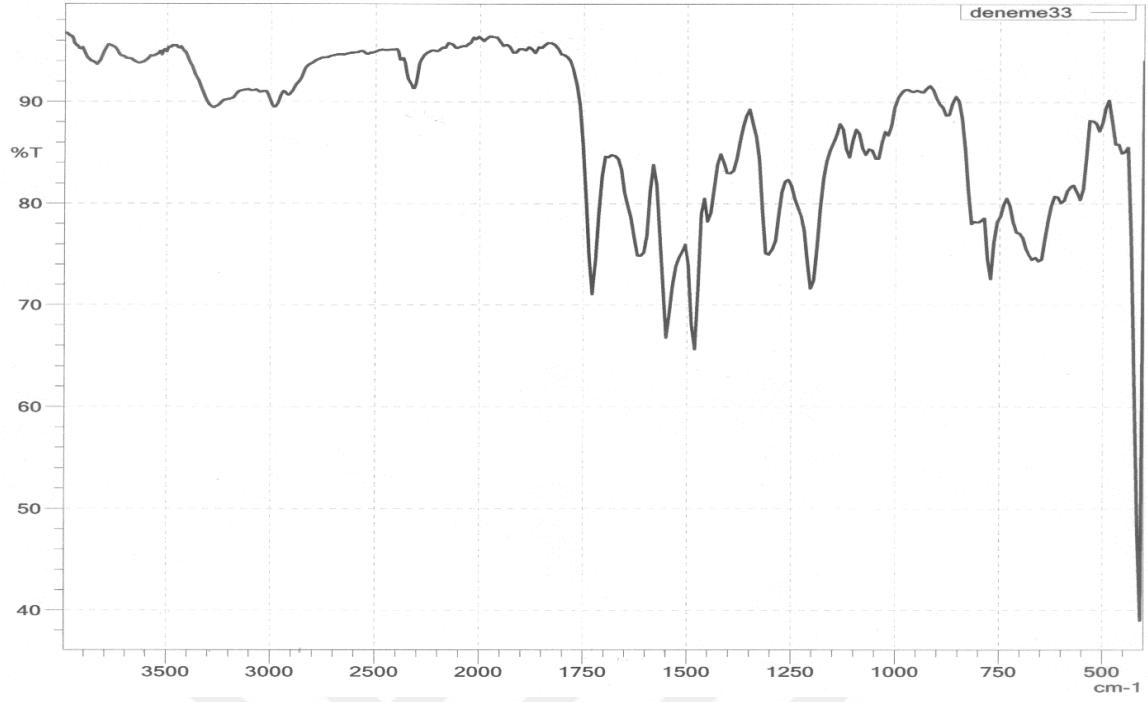
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.92 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, NH''), 8.10 (s, 1H, NH'), 8.00 – 7.67 (m, 3H, Ar-H), 7.61 – 7.31 (m, 5H, Ar-H), 7.17 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.10 – 6.99 (m, 3H, Ar-H), 6.84 (dd, *J* = 8.4, 3.7 Hz, 1H, Ar-H), 6.28 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, Ar-H), 2.19 (s, 3H, Hf).

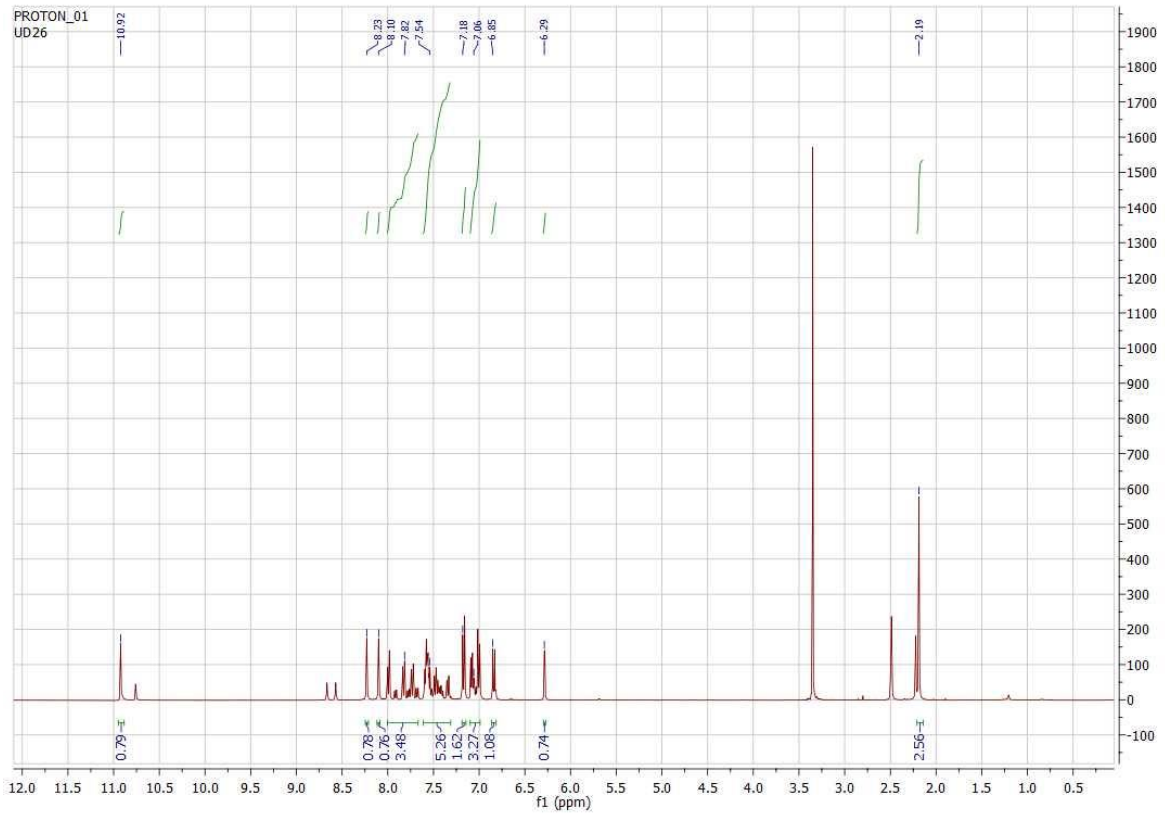
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.84 (C=O), 156.10 (N-CO-N), 152.81 (C=N), 146.61 (=N-C), 142.41, 137.39, 134.30, 134.24, 130.98, 129.61, 129.53, 128.57, 127.20, 126.56, 126.11, 125.85, 125.52, 124.47, 123.39, 118.81, 118.62, 116.59, 116.16, 112.14, 112.02, 20.75 (Me).

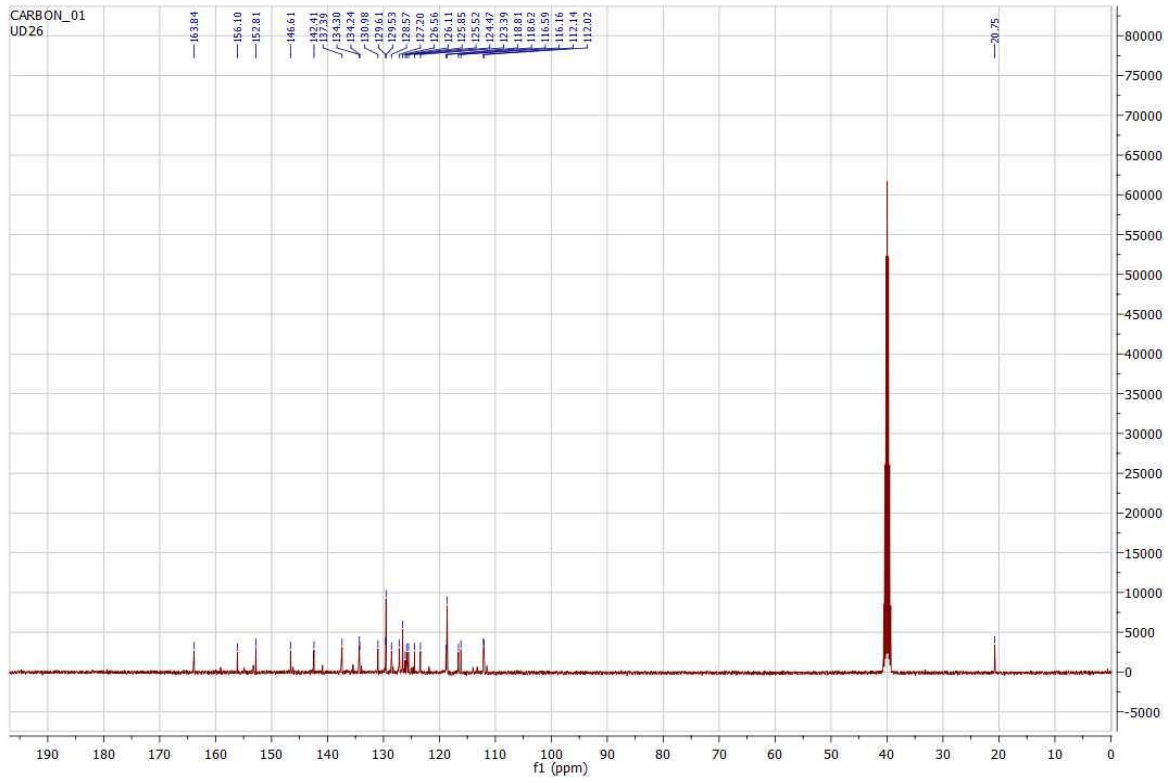
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 421.75 [MH⁺].



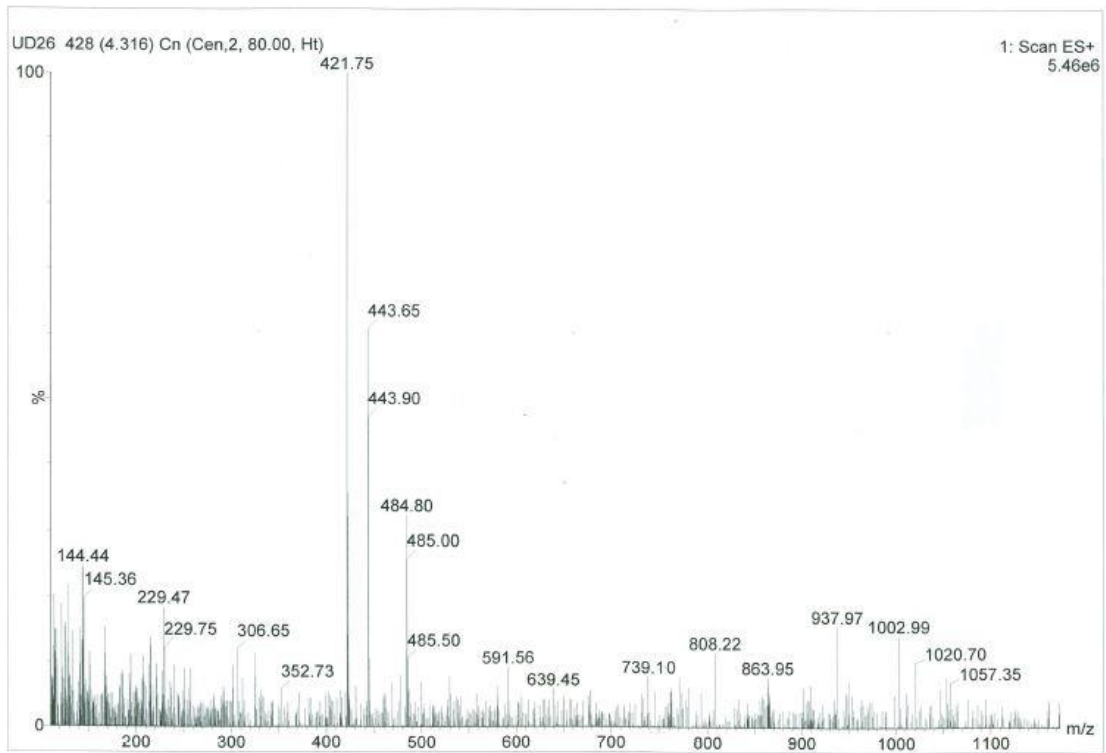
Şekil 4.53: Bileşik 7h'nin IR spektrumu.



Şekil 4.54: Bileşik 7h'nin ^1H -NMR spektrumu.

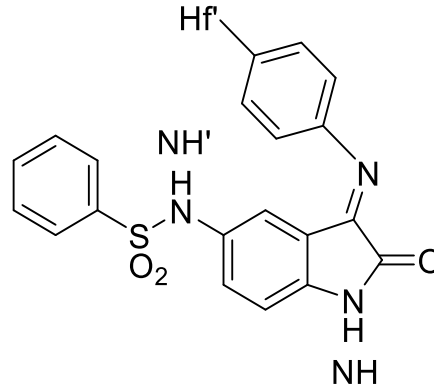


Şekil 4.55: Bileşik 7h'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.56: Bileşik 7h'nin kütle spektrumu

4.2.9. (E/Z)-N-(2-okso-3-(*p*-tolilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8a)



Bileşik 6a (1 mmol), *p*-toluidin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolla yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %65.

EN: 154-156 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3240 (NH), 3190 (isatin NH), 1735 (C=O), 1630 (C=N) cm⁻¹

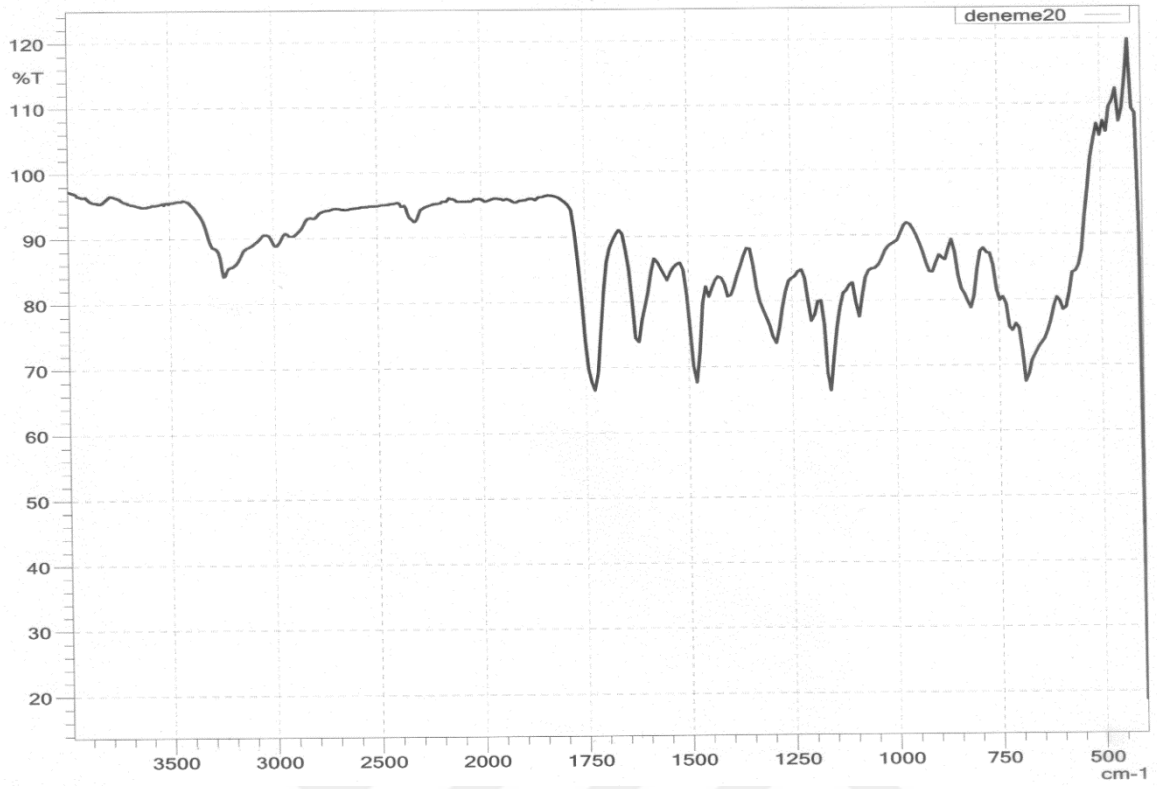
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H-NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.89 (s, 1H, NH), 9.91 (s, 1H, NH'), 7.76 – 7.46 (m, 5H, Ar-H), 7.29 – 6.93 (m, 4H, Ar-H), 6.84 – 6.72 (m, 2H, Ar-H), 6.47 (s, 1H, Ar-H), 2.39 (s, 3H, Hf').

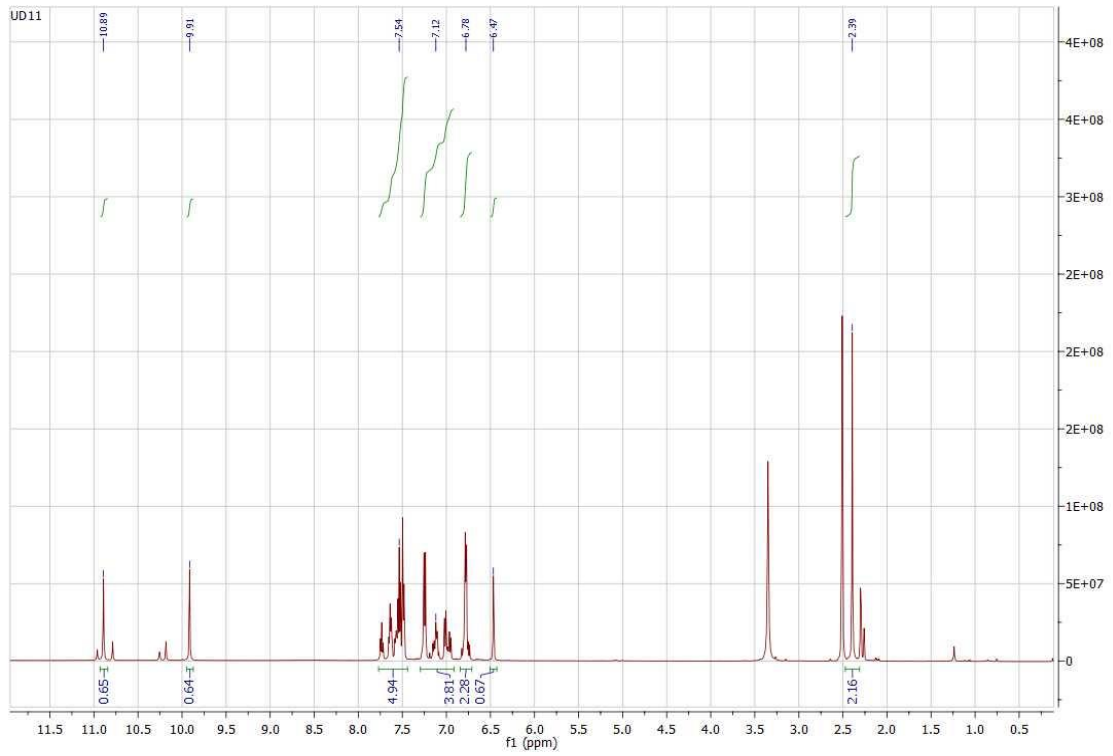
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.98 (C=O), 154.46 (C=N), 147.50 (=N-C), 144.39 (C-NH-S), 139.47, 134.83, 133.31, 131.7, 130.50, 129.79, 129.60, 129.21, 128.90, 128.50, 127.02, 120.38, 119.73, 117.87, 116.22, 112.32, 21.18 (Me).

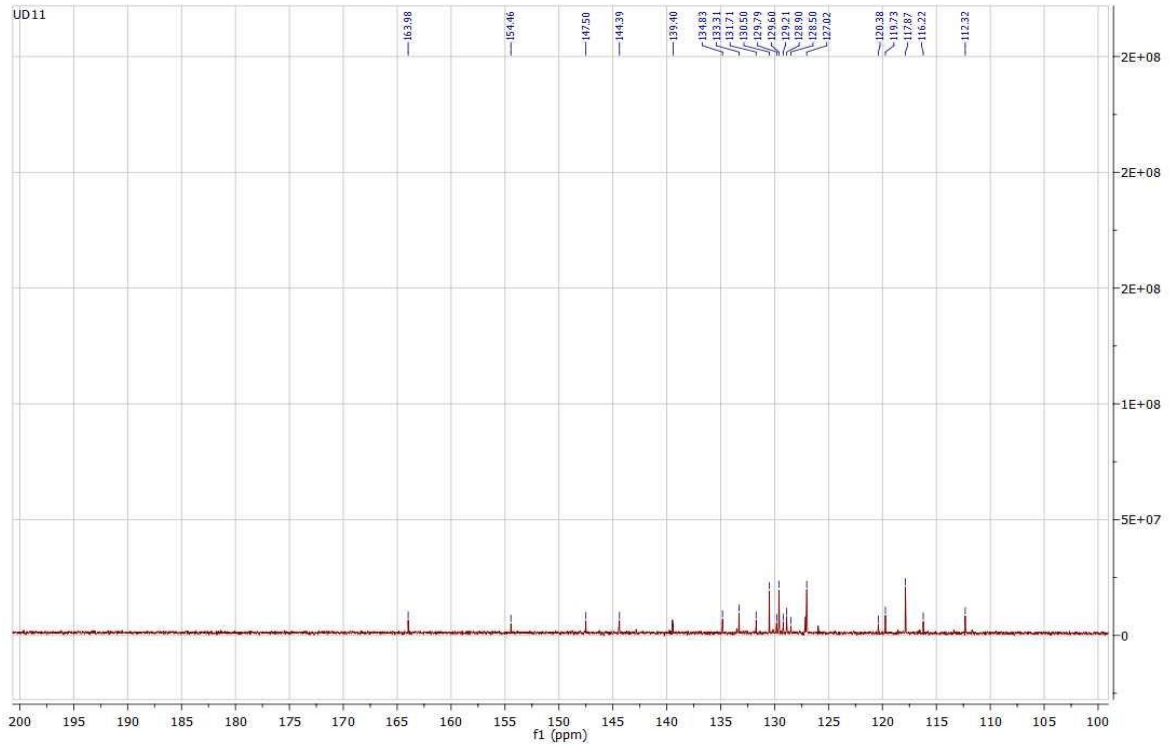
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 392.76 [MH⁺].



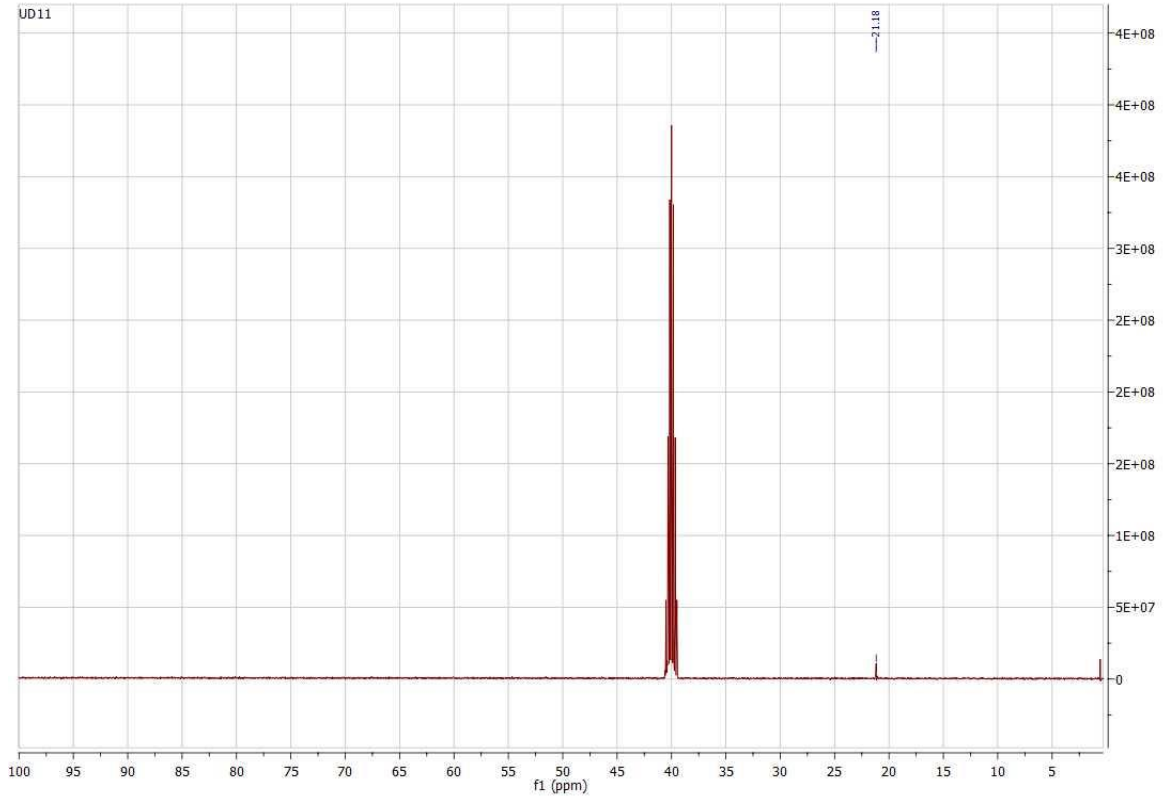
Şekil 4.57: Bileşik 8a'nın IR spektrumu.



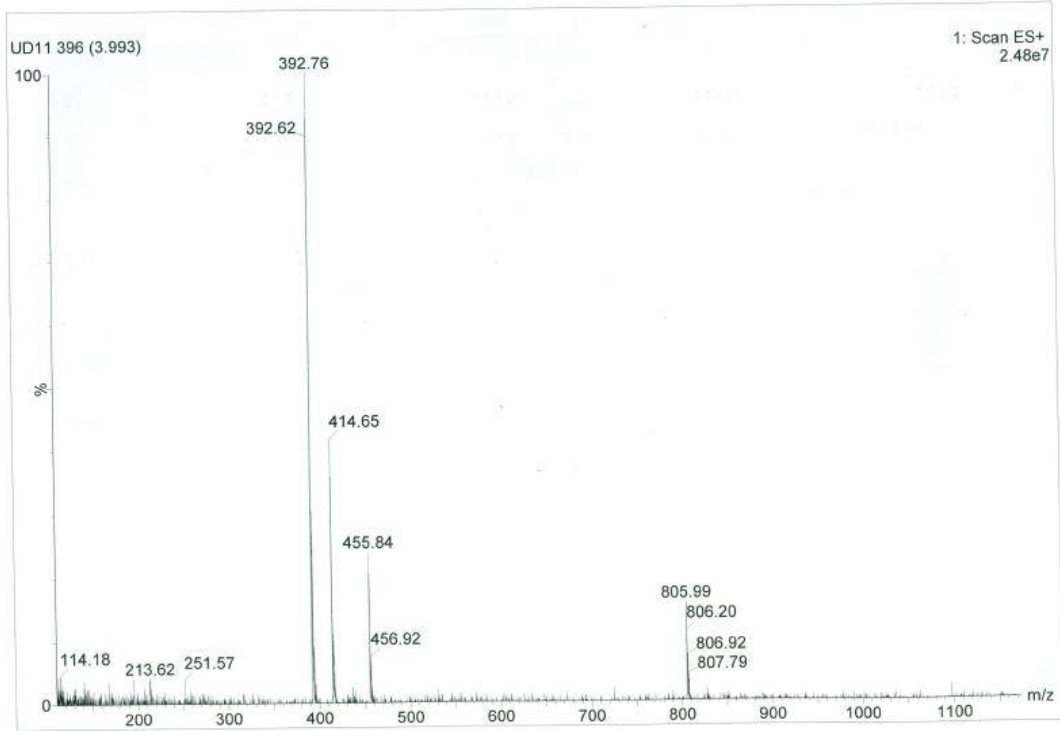
Şekil 4.58: Bileşik 8a'nın ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.59: Bileşik 8a'nın ^{13}C -NMR spektrumu.

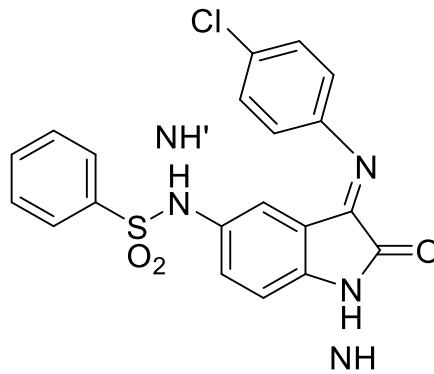


Şekil 4.60: Bileşik 8a'nın ^{13}C -NMR spektrumu devamı.



Şekil 4.61: Bileşik 8a'nın kütle spektrumu

4.2.10. (E/Z)-N-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8b)



Bileşik 6a (1 mmol), *p*-kloroanilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %61.

EN: 122-126 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3260 (NH), 3150 (isatin NH), 1740 (C=O), 1620 (C=N) cm^{-1}

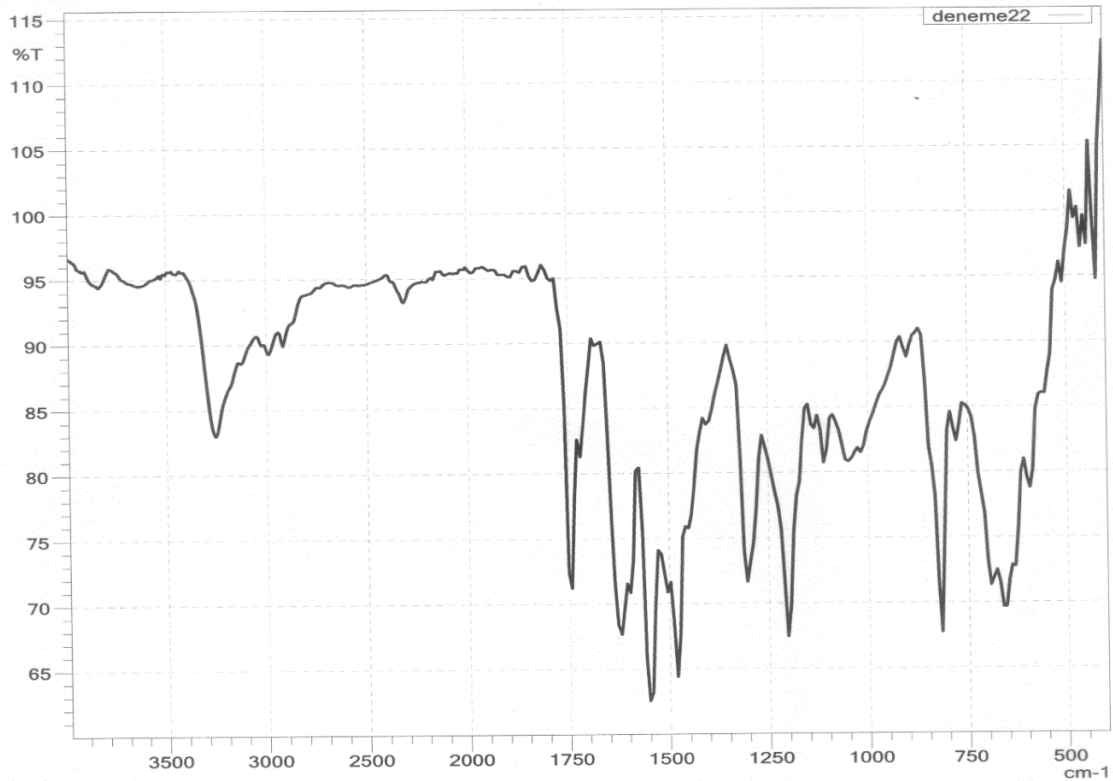
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.92 (s, 1H, NH), 9.94 (s, 1H, NH'), 7.81 – 7.41 (m, 6H, Ar-H), 7.37 – 6.87 (m, 4H, Ar-H), 6.83 – 6.52 (m, 1H, Ar-H), 6.34 (d, J = 1.9 Hz, 1H, Ar-H).

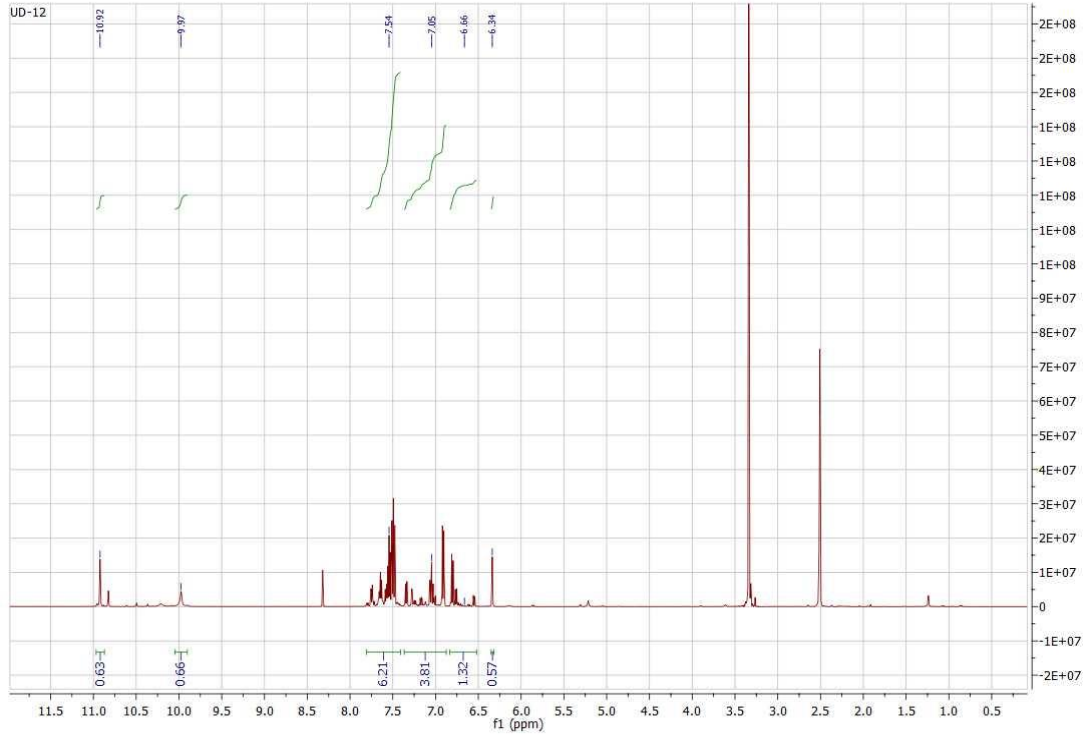
^{13}C -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.76 (C=O), 155.34 (C=N), 149.01 (=N-C), 144.54 (C-NH-S), 139.43, 133.37, 132.66, 131.87, 130.10, 129.81, 129.64, 128.98, 128.69, 128.06, 127.13, 126.97, 121.58, 119.58, 116.10, 112.50.

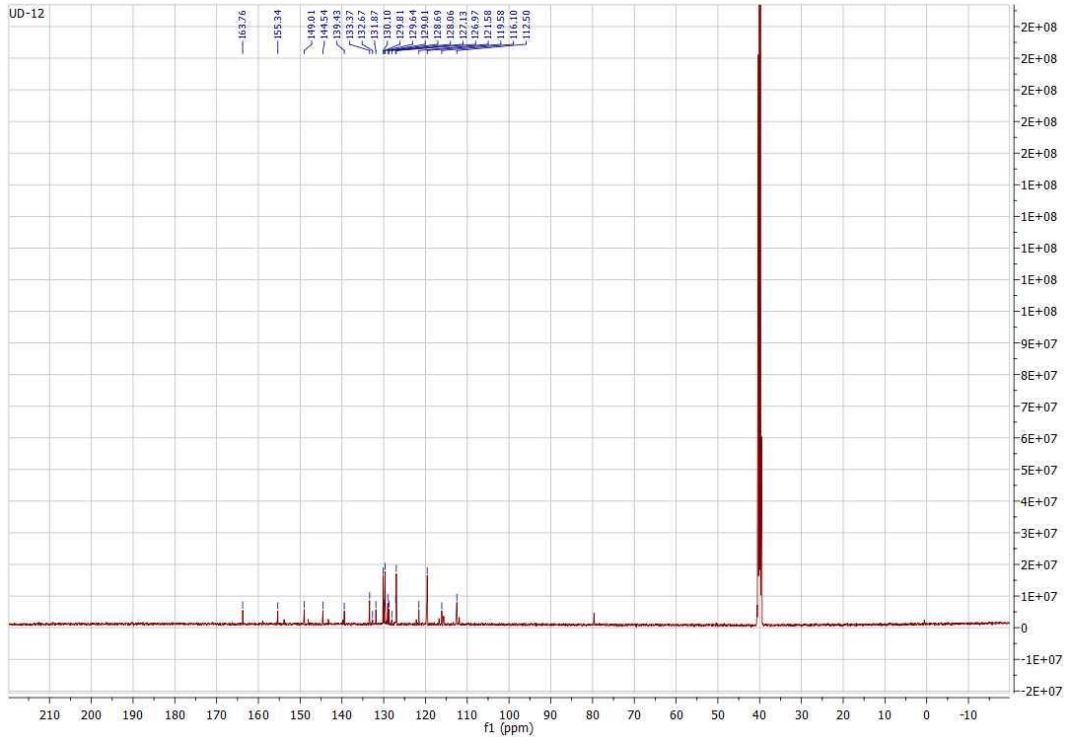
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 412.55 [MH^+].



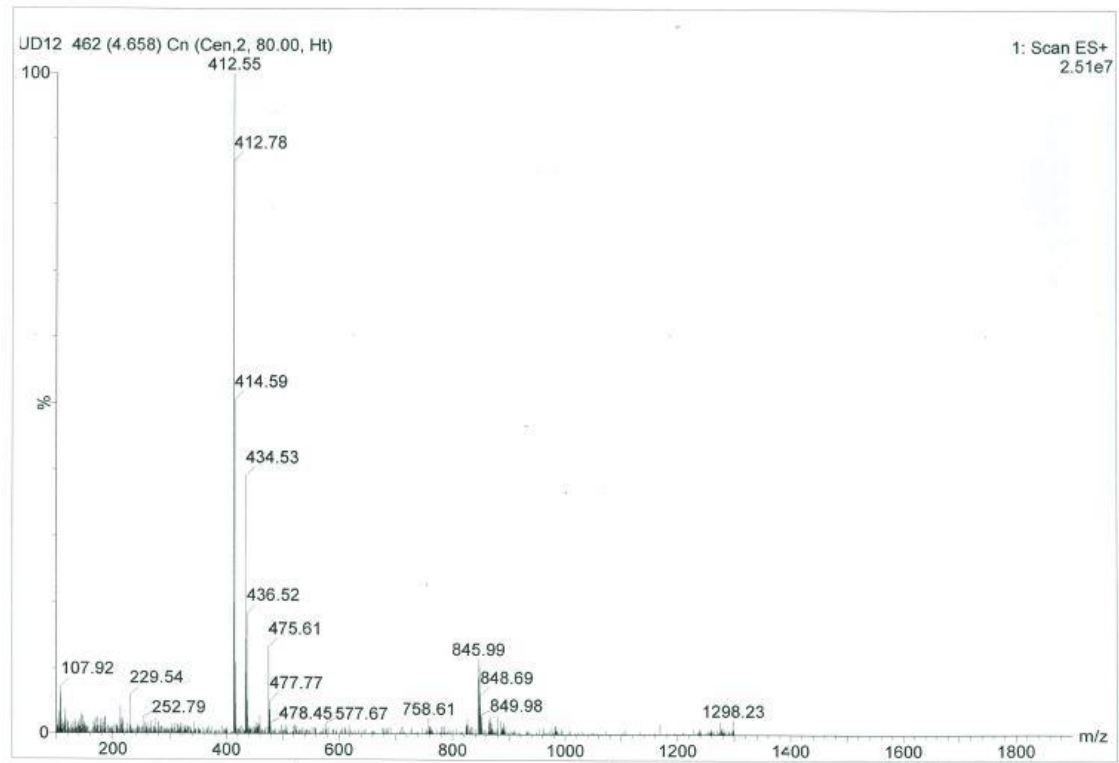
Şekil 4.62: Bileşik 8b'nin IR spektrumu.



Şekil 4.63: Bileşik 8b'nin ^1H -NMR spektrumu.

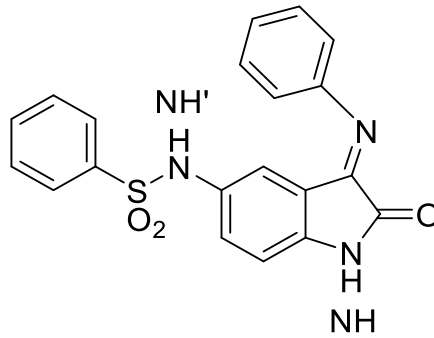


Şekil 4.64: Bileşik 8b'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.65: Bileşik 8b'nin kütle spektrumu

4.2.11. (E/Z)-N-(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8c)



Bileşik 6a (1 mmol), anilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %55.

EN: 117-120 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3215 (NH), 3150 (isatin NH), 1720 (C=O), 1620 (C=N) cm^{-1}

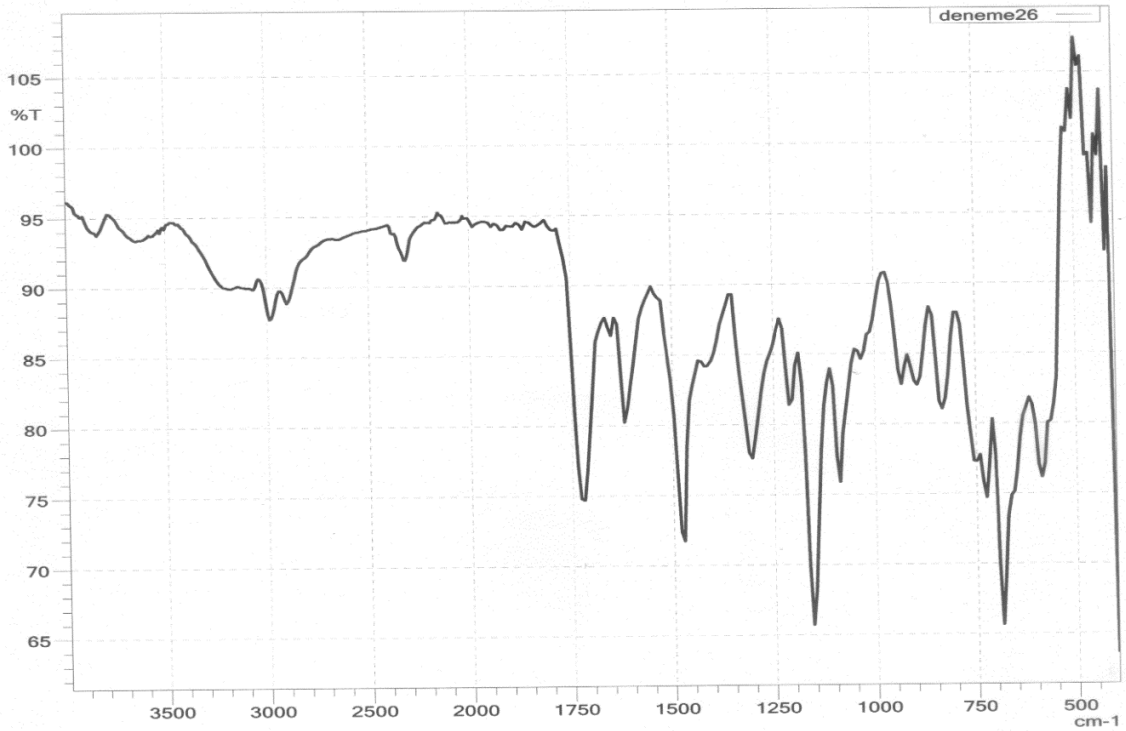
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.91 (s, 1H, NH), 9.93 (s, 1H, NH'), 7.77 – 7.42 (m, 6H, Ar-H), 7.33 – 7.24 (m, 1H, Ar-H), 7.18 – 6.97 (m, 2H, Ar-H), 6.90 – 6.64 (m, 3H, Ar-H), 6.39 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, Ar-H).

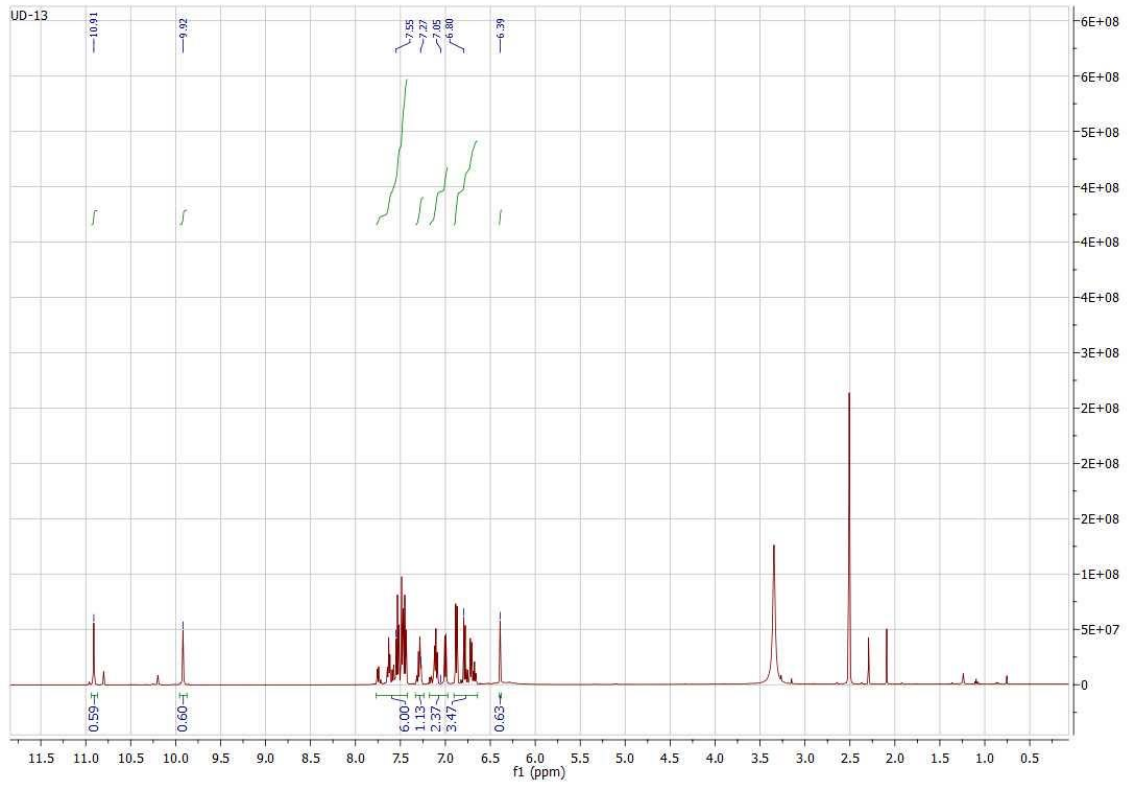
^{13}C -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.9 (C=O), 154.61 (C=N), 150.15 (=N-C), 144.47 (C-NH-S), 139.41, 133.29, 131.76, 130.09, 129.65, 129.47, 128.89, 127.03, 125.96, 125.67, 125.60, 119.91, 119.74, 117.60, 116.18, 112.35.

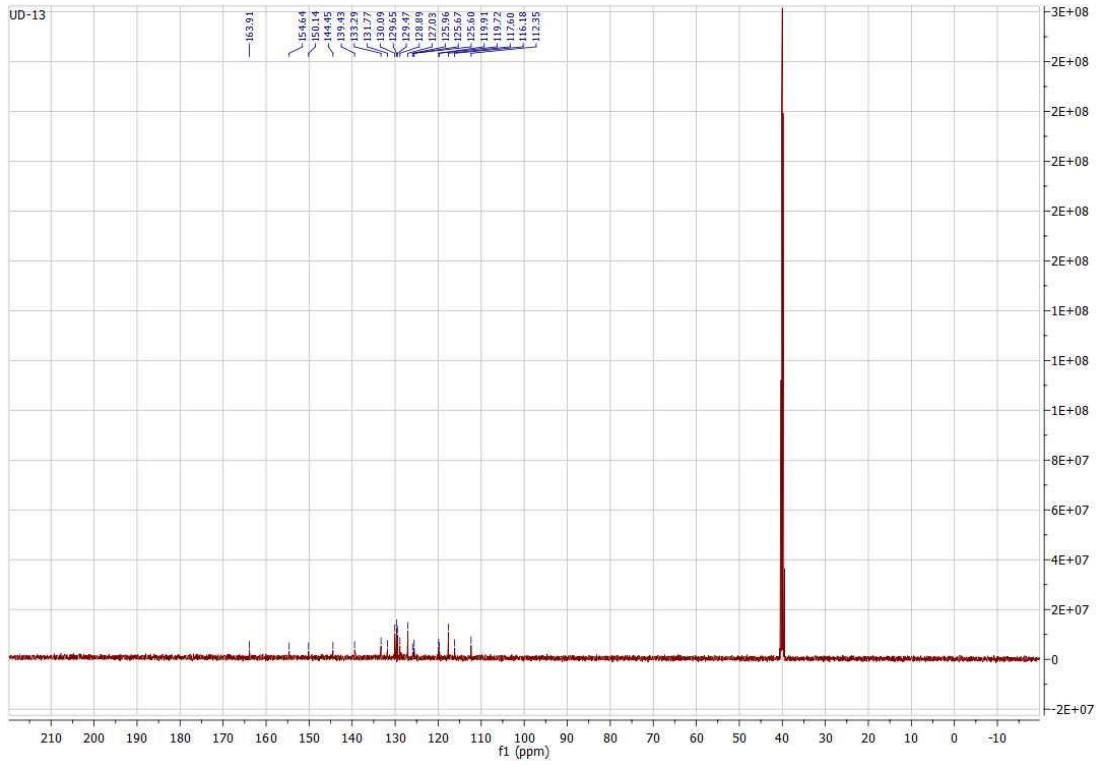
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 378.66 [MH^+].



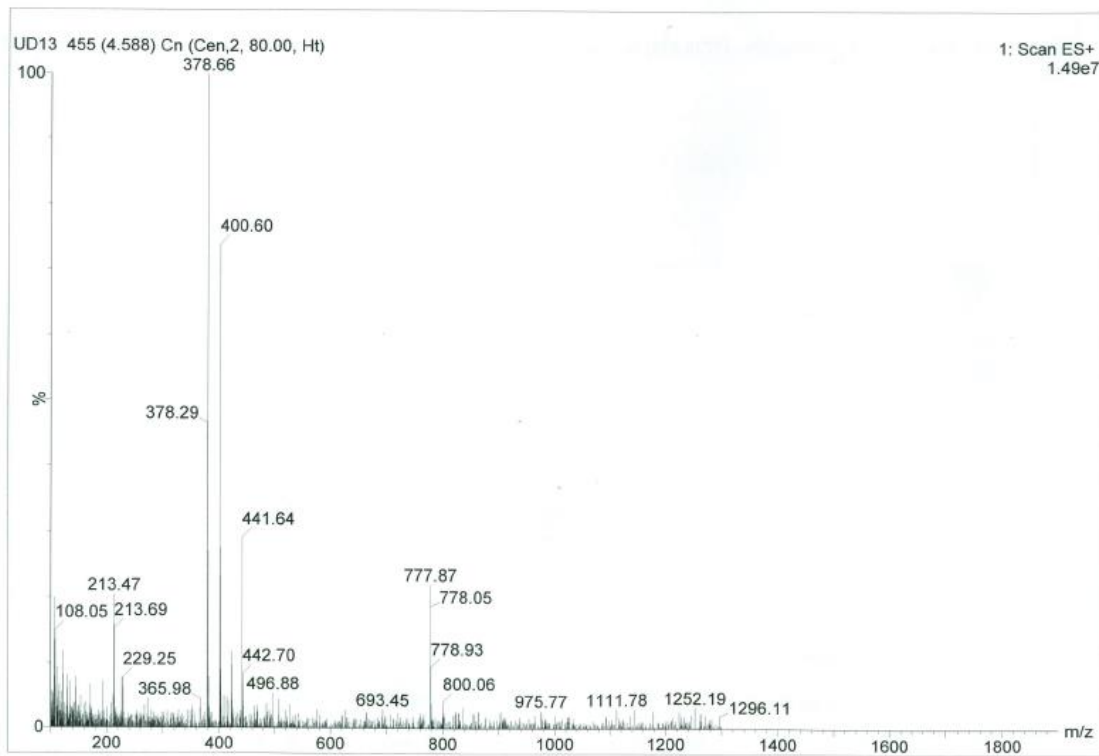
Şekil 4.66: Bileşik 8c'nin IR spektrumu.



Şekil 4.67: Bileşik 8c'nin ^1H -NMR spektrumu.



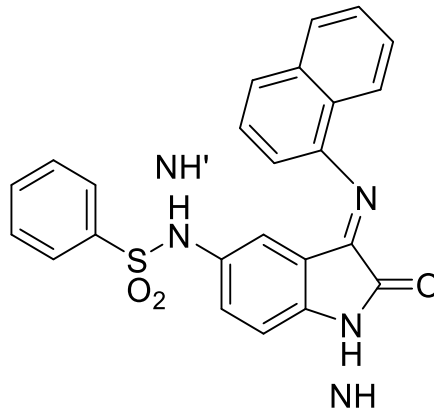
Şekil 4.68: Bileşik 8c'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.69: Bileşik 8c'nin kütle spektrumu

4.2.12. (E/Z)-N-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid

Sentezi (8d)



Bileşik 6a (1 mmol), α -naftilamin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃: MetOH; 96:4) Verim: %51.

EN: 150-154 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3380 (NH), 3100 (isatin NH), 1710 (C=O), 1620 (C=N) cm^{-1}

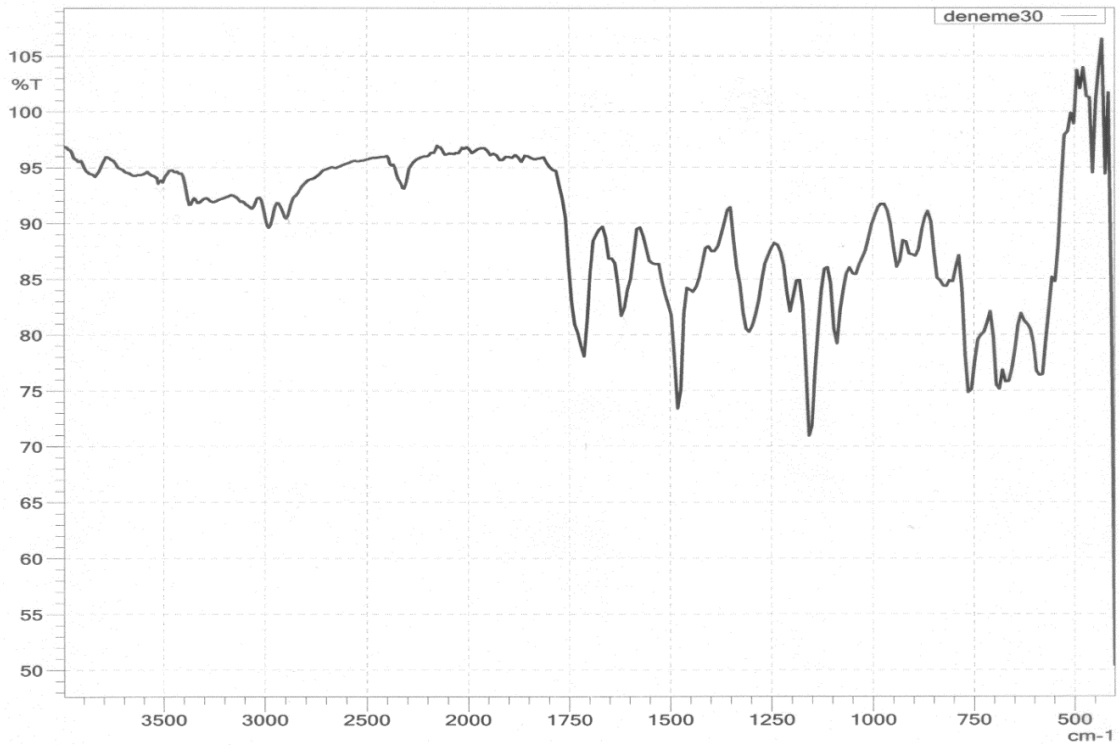
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, dmso) δ 10.95 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, NH'), 8.04 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.86 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, Ar-H), 7.71 – 7.44 (m, 5H, Ar-H), 7.30 (t, 2H, Ar-H), 7.19 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H, Ar-H), 6.96 – 6.90 (m, 2H, Ar-H), 6.76 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, Ar-H), 6.26 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, Ar-H).

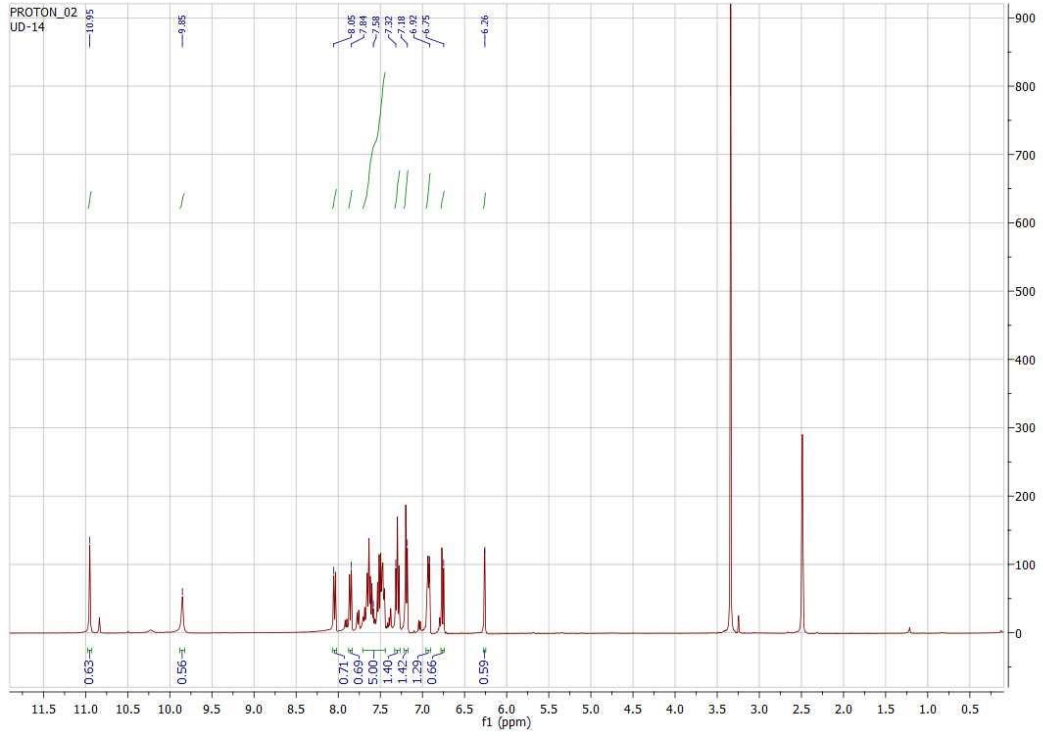
^{13}C -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.72 (C=O), 155.78 (C=N), 146.44 (=N-C), 144.29 (C-NH-S), 139.09, 134.34, 133.13, 131.88, 129.80, 129.40, 128.64, 128.17, 127.20, 127.16, 126.85, 126.52, 125.59, 124.30, 123.31, 118.64, 116.26, 113.39, 112.41, 111.90.

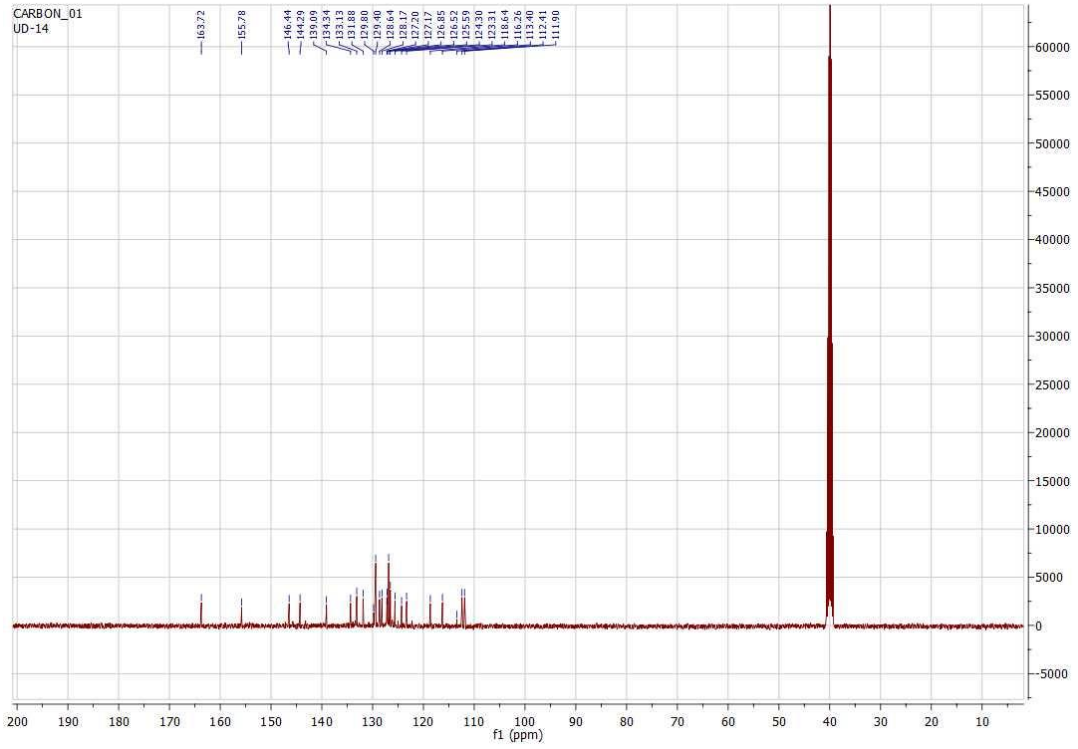
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 428.75 [MH^+].



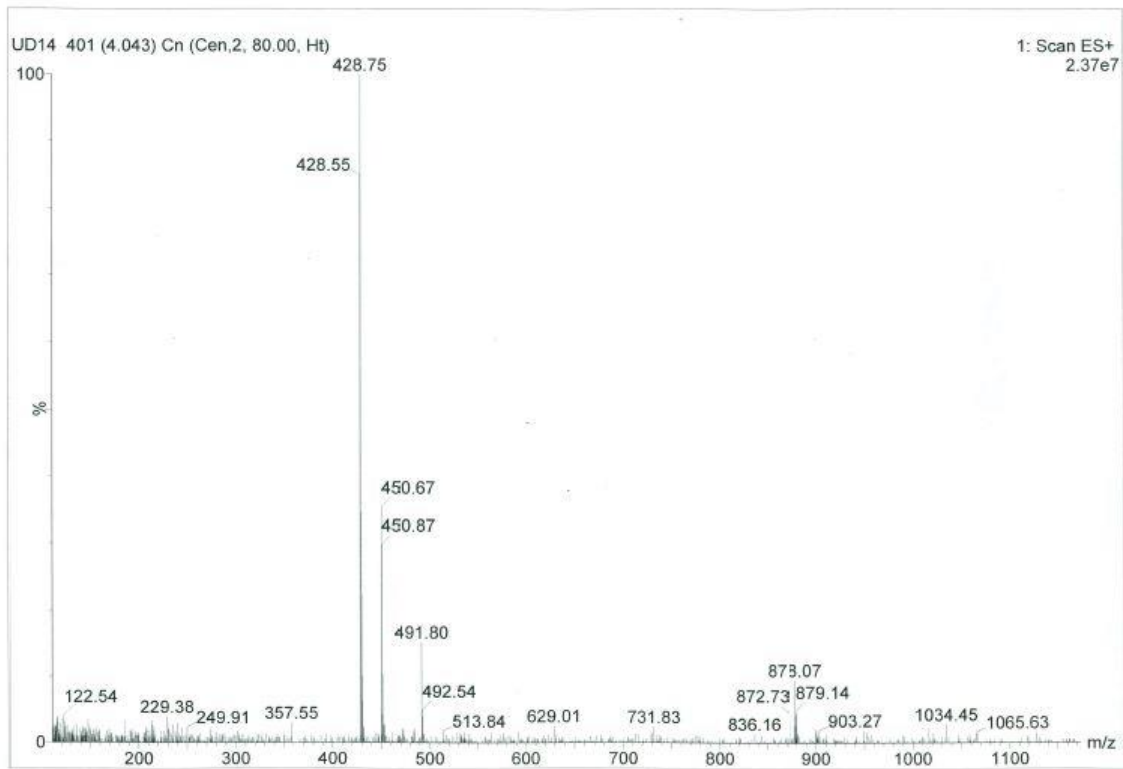
Şekil 4.70: Bileşik 8d'nin IR spektrumu.



Şekil 4.71: Bileşik 8d'nin ^1H -NMR spektrumu.



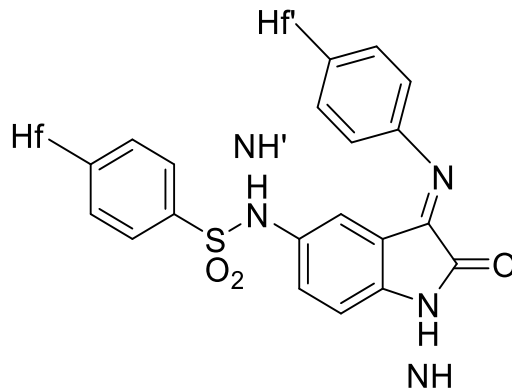
Şekil 4.72: Bileşik 8d'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.73: Bileşik 8d'nin kütle spektrumu

4.2.13. (E/Z)-4-metil-N-(2-okso-3-(*p*-tolilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid

Sentezi (8e)



Bileşik 6b (1 mmol), *p*-toluidin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evaporasyonla ayrıldı, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃: MetOH; 96:4) Verim: %60.

EN: 159-161 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3200 (NH), 3100 (isatin NH), 1730 (C=O), 1620 (C=N) cm^{-1}

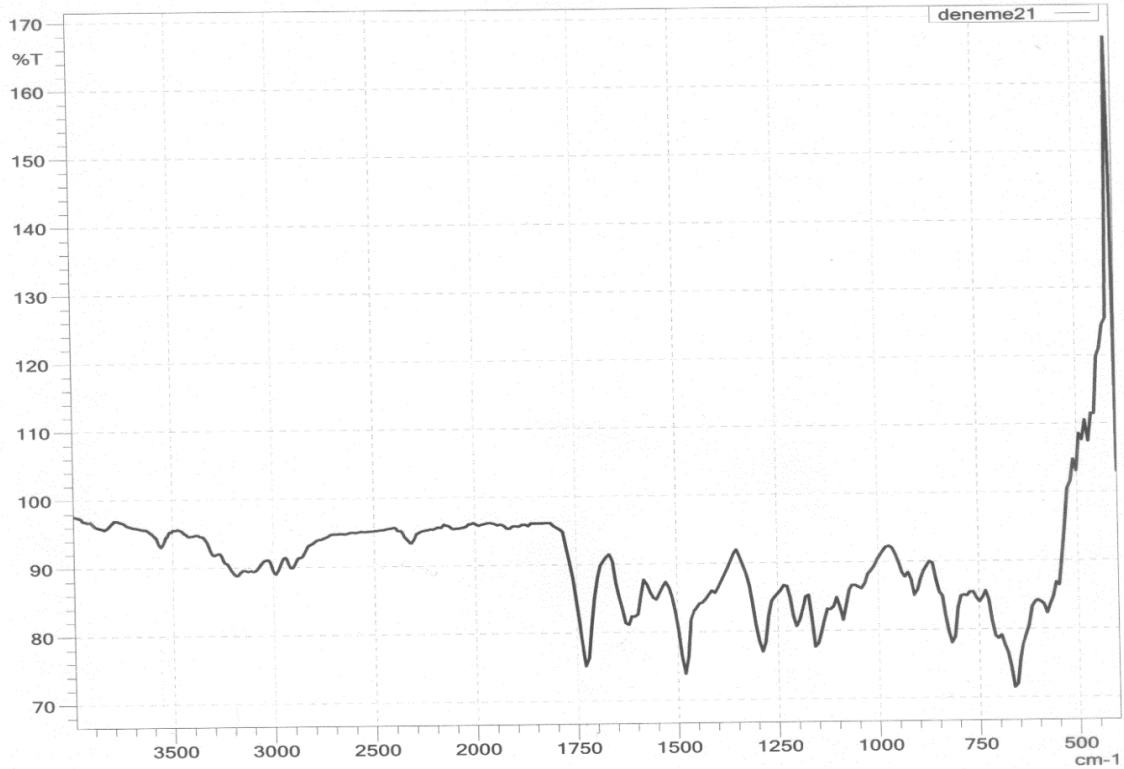
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.88 (s, 1H, NH), 9.84 (s, 1H, NH'), 7.62 (t, 1H, Ar-H), 7.43 – 7.22 (m, 5H, Ar-H), 7.17 – 6.92 (m, 2H, Ar-H), 6.82 – 6.73 (m, 2H, Ar-H), 6.49 (d, J = 2.0 Hz, 1H, Ar-H), 2.39 (s, 3H, Hf'), 2.36 (s, 3H, Hf).

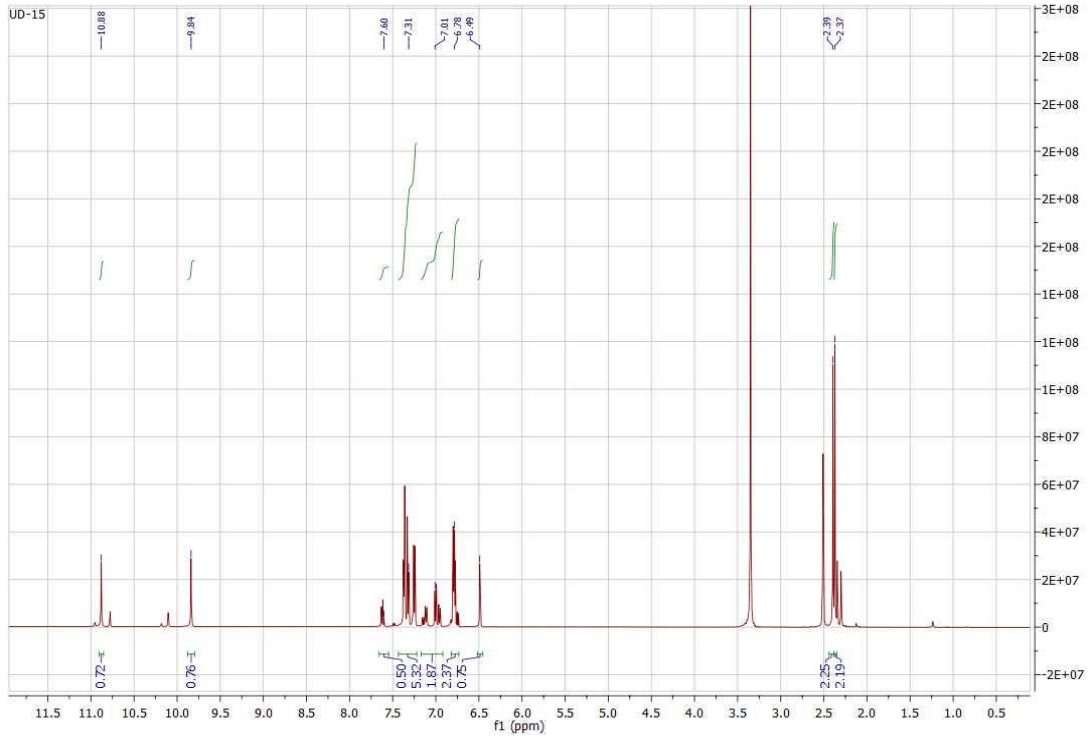
^{13}C -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.00 (C=O), 154.49 (C=N), 147.50 (=N-C), 144.25 (C-NH-S), 143.58, 136.64, 134.86, 131.90, 130.45, 130.21, 130.01, 129.21, 128.67, 127.18, 127.10, 120.37, 119.53, 117.90, 116.21, 112.31, 21.46 (Me), 21.17 (Me).

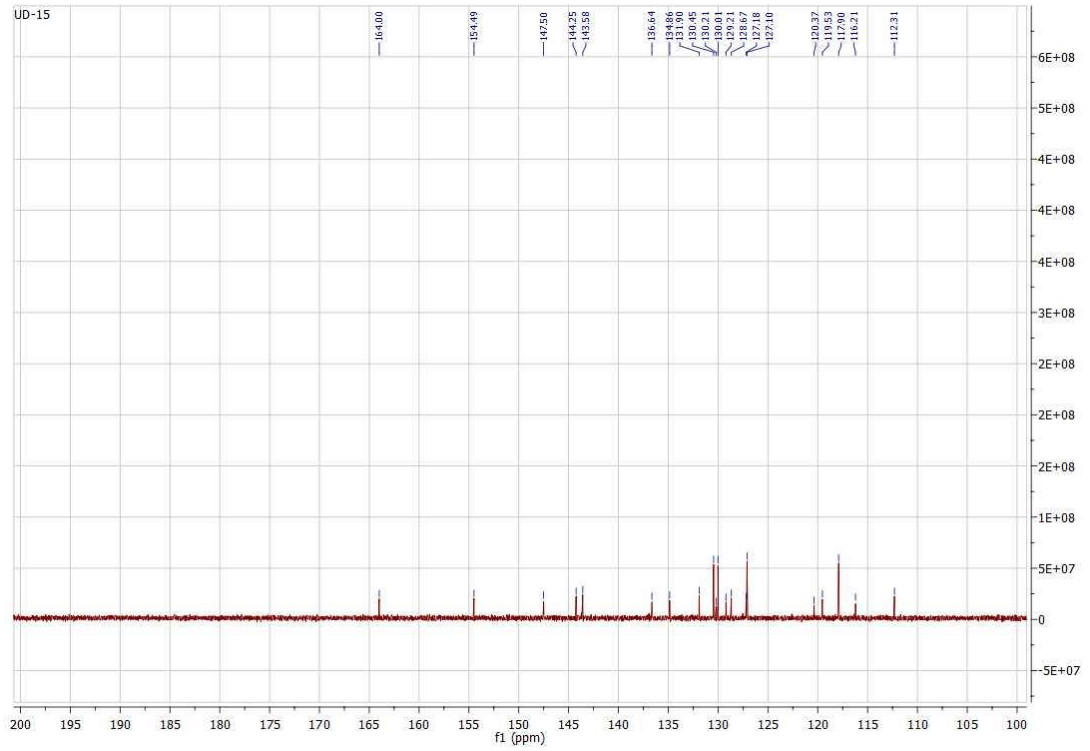
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 406.73 [MH^+].



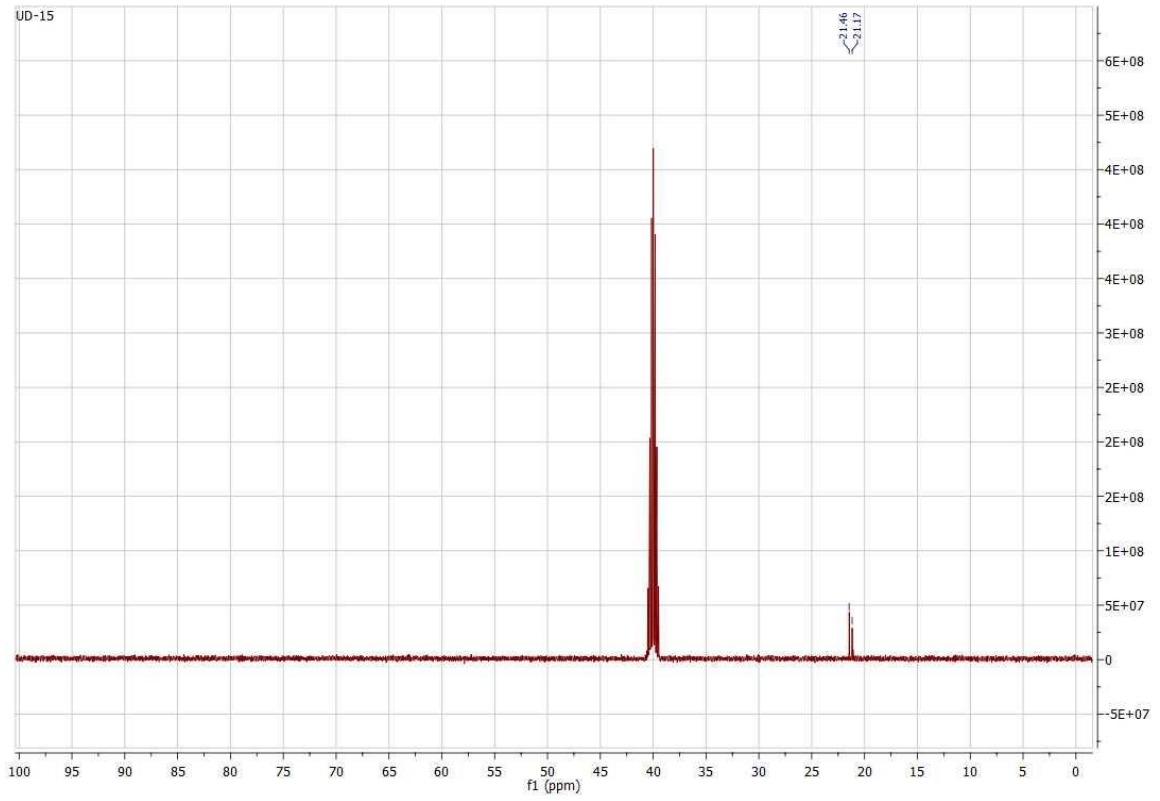
Şekil 4.74: Bileşik 8e'nin IR spektrumu.



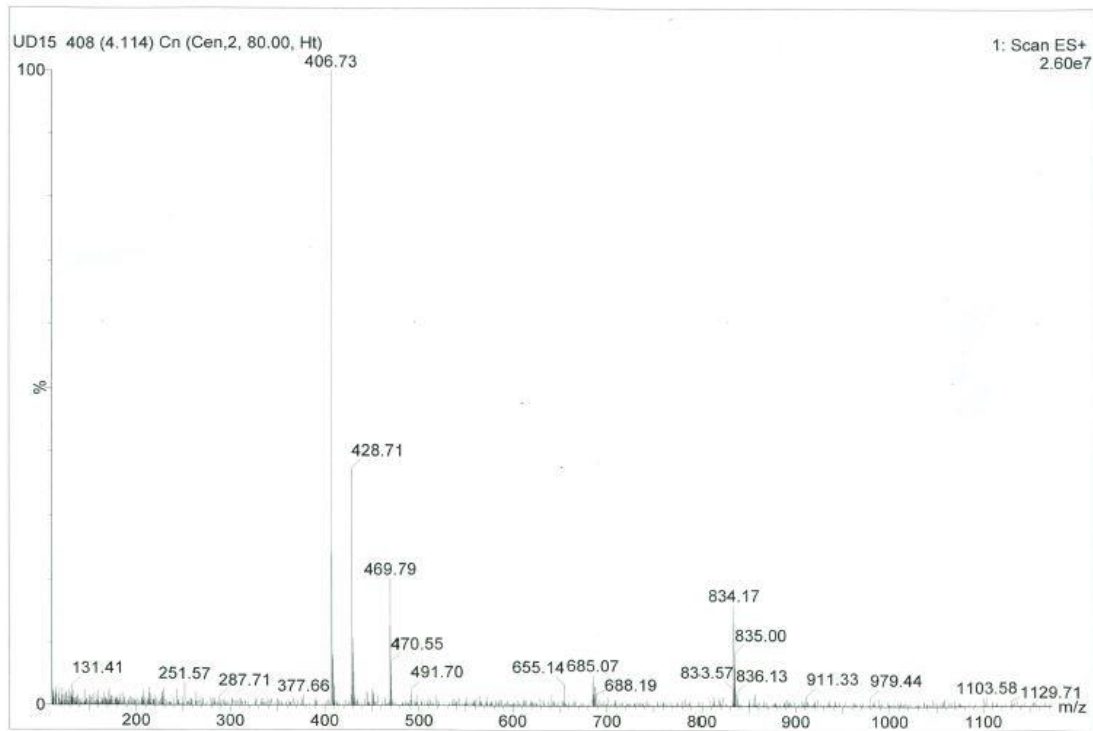
Şekil 4.75: Bileşik 8e'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.76: Bileşik 8e'nin ^{13}C -NMR spektrumu.

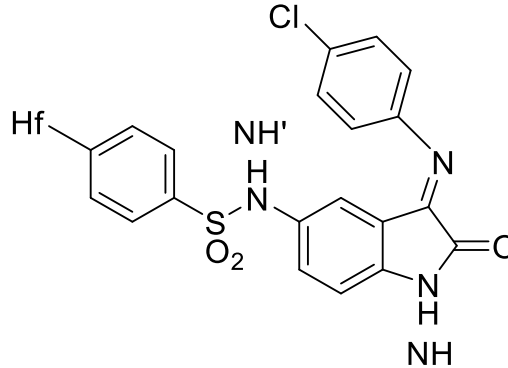


Şekil 4.77: Bileşik 8e'nin ^{13}C -NMR spektrumu devamı.



Şekil 4.78: Bileşik 8e'nin kütle spektrumu

4.2.14. (E/Z)-N-(3-((4-klorofenil)imino)-2-oksoindolin-5-il)-4-metilbensensülfonamid Sentezi (8f)



Bileşik 6b (1 mmol), *p*-kloroanilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃ : MetOH; 96:4) Verim: %51.

EN: 125-127 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3250 (NH), 3120 (isatin NH), 1730 (C=O), 1620 (C=N) cm⁻¹

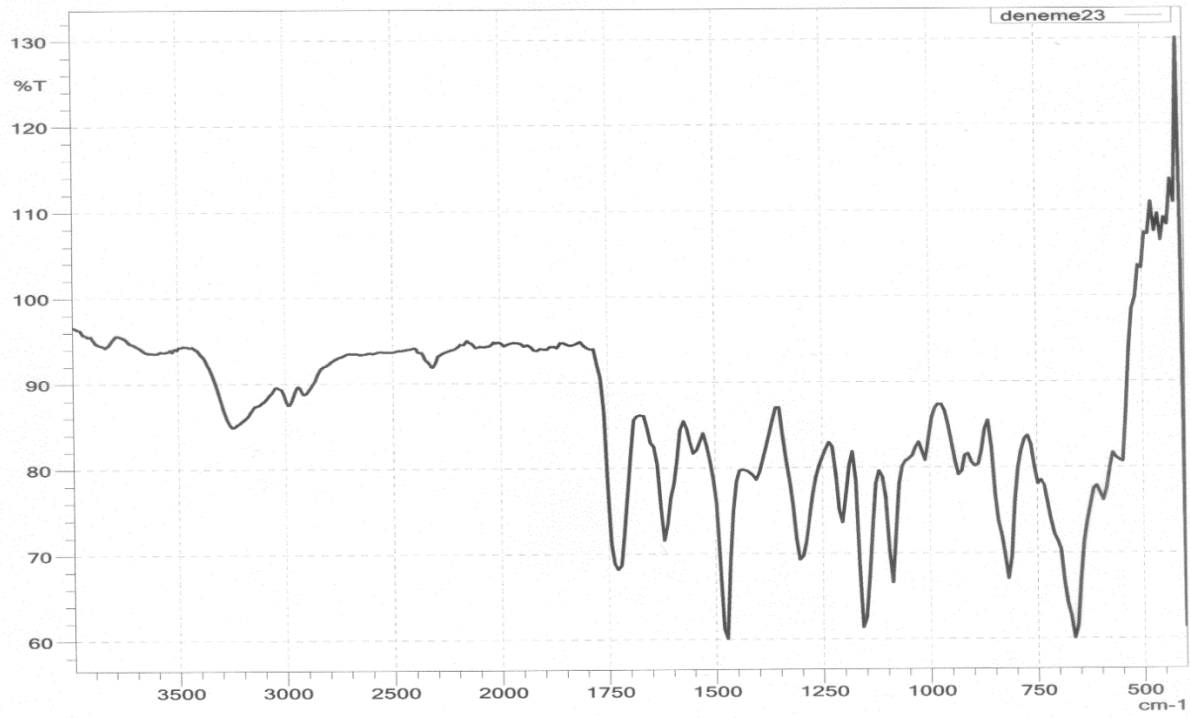
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (400 MHz, dmso) δ 10.93 (s, 1H, NH), 9.92 (s, 1H, NH'), 7.67 – 7.22 (m, 6H, Ar-H), 7.20 – 6.71 (m, 4H, Ar-H), 6.36 (s, 1H, Ar-H), 2.35 (s, 3H, Hf).

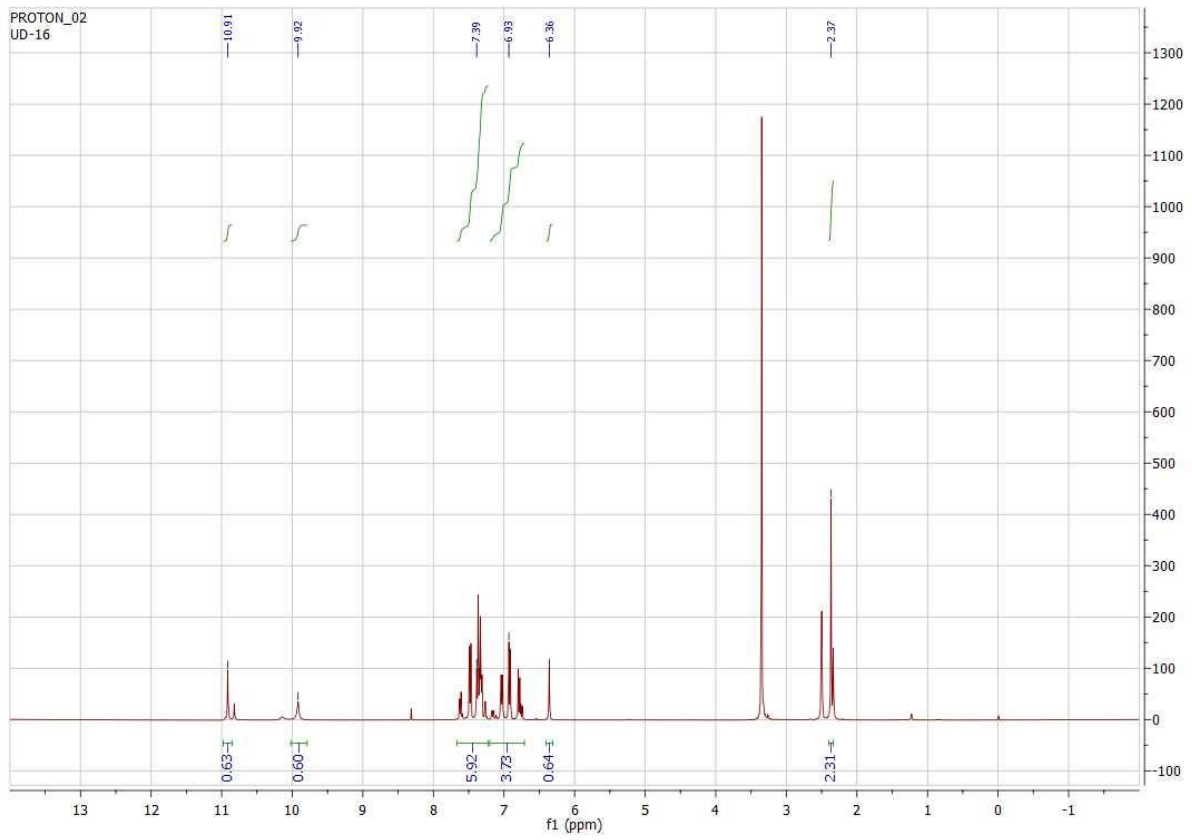
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.75 (C=O), 155.36 (C=N), 148.99 (=N-C), 144.36 (C-NH-S), 143.63, 143.06, 136.46, 132.03, 130.21, 130.10, 129.98, 129.68, 128.69, 127.16, 127.03, 121.55, 119.61, 119.38, 116.08, 112.47, 21.46 (Me).

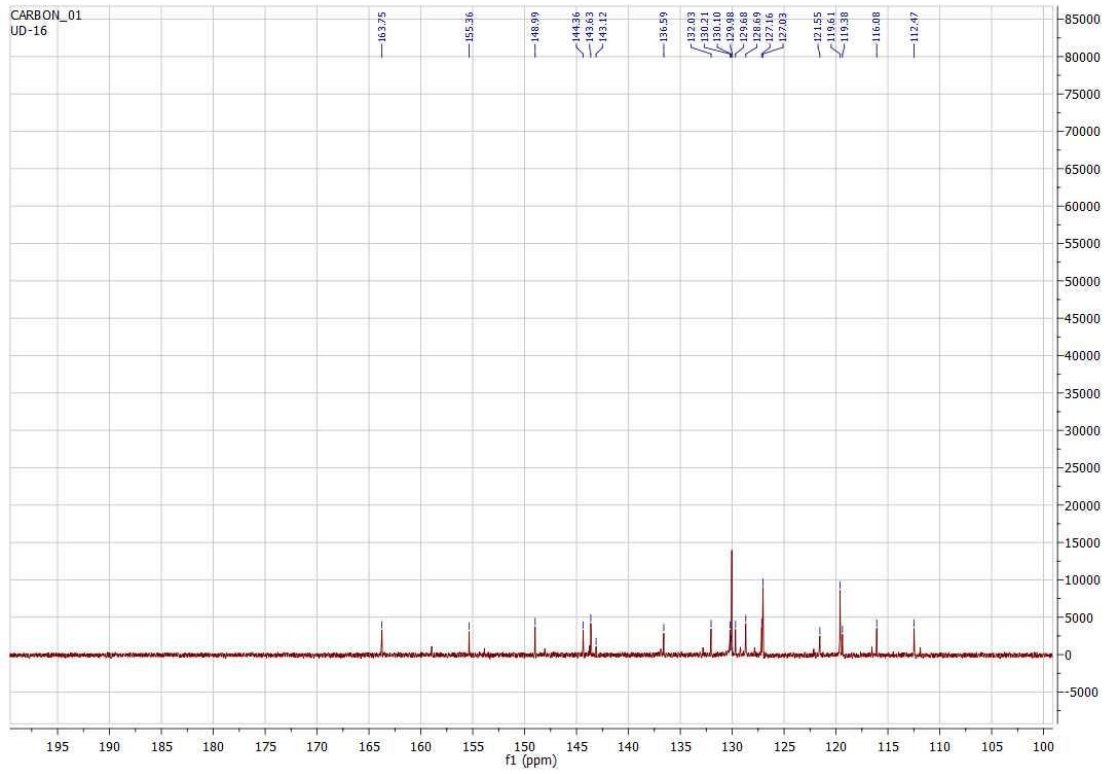
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 426.61 [MH⁺].



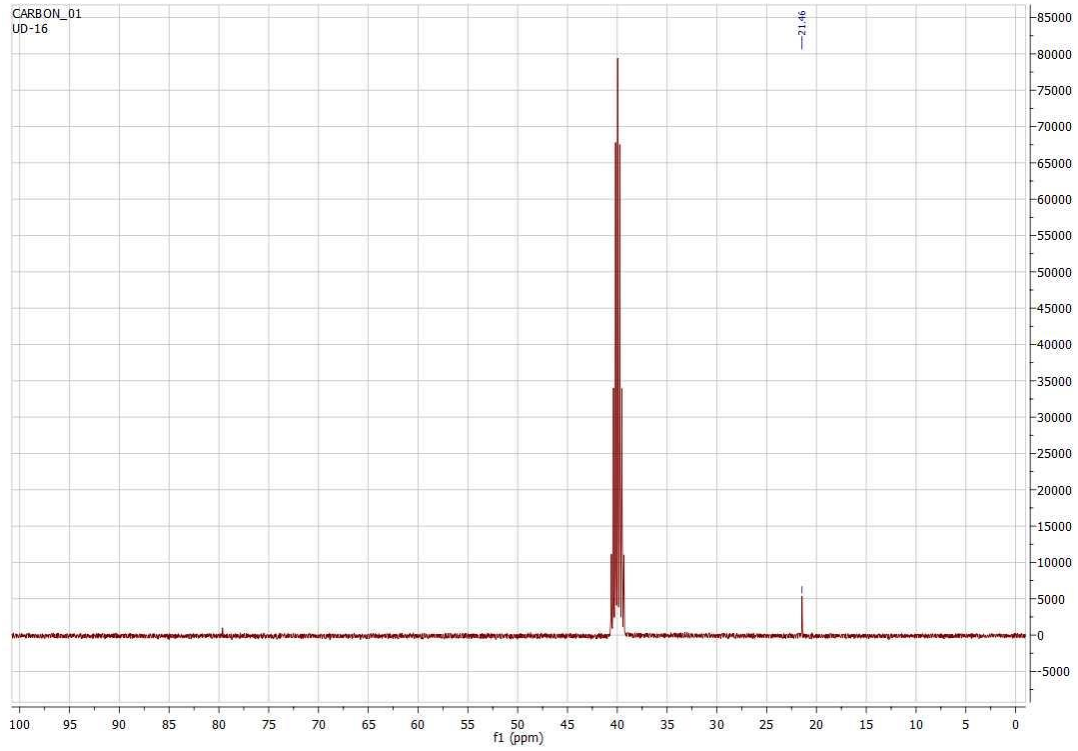
Şekil 4.79: Bileşik 8f'nin IR spektrumu.



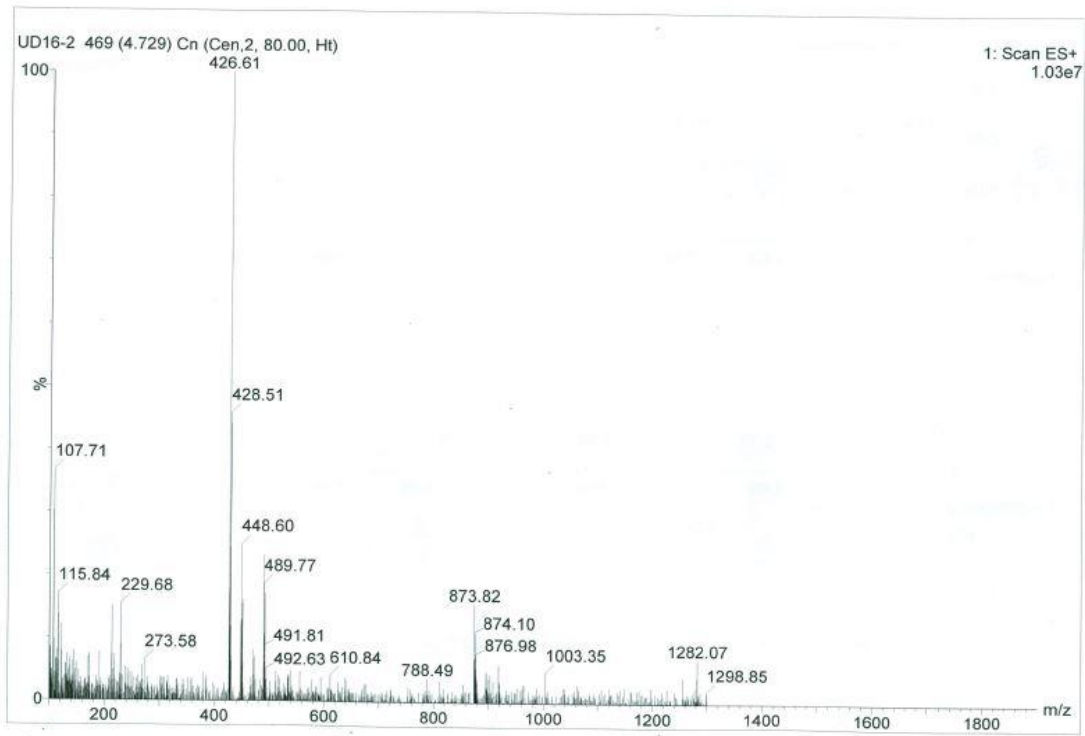
Şekil 4.80: Bileşik 8f'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.81: Bileşik 8f'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



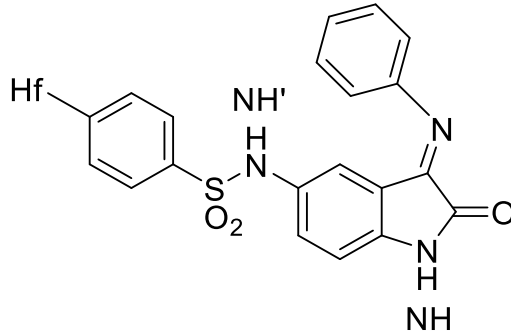
Şekil 4.82: Bileşik 8f'nin ^{13}C -NMR spektrumu devamı.



Şekil 4.83: Bileşik 8f'nin kütle spektrumu.

4.2.15. (E/Z)-4-metil-N-(2-okso-3-(fenilimino)indolin-5-il)benzensülfonamid

Sentezi (8g)



Bileşik 6b (1 mmol), anilin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃: MetOH; 96:4) Verim: %54.

EN: 256-258 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3380 (NH), 3100 (isatin NH), 1740 (C=O), 1620 (C=N) cm^{-1}

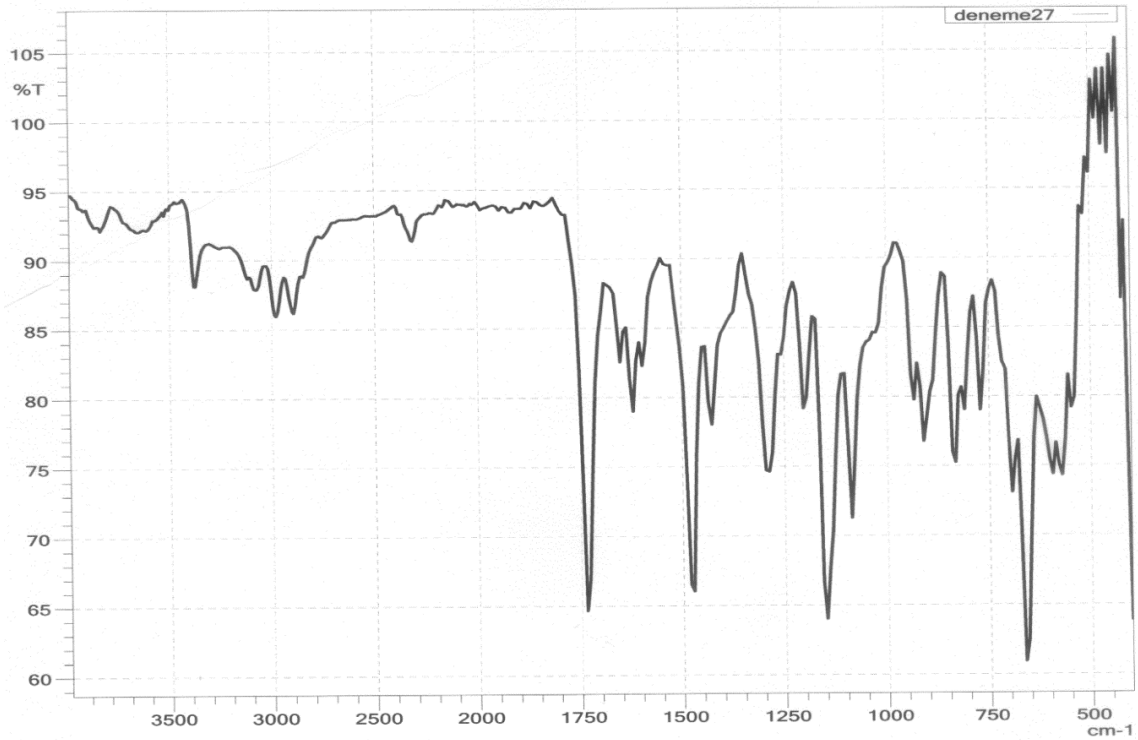
^1H -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^1H NMR (400 MHz, dmso) δ 10.90 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, NH'), 7.63 – 7.22 (m, 7H, Ar-H), 7.17 – 6.72 (m, 4H, Ar-H), 6.39 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, Ar-H), 2.35 (s, 3H, Hf).

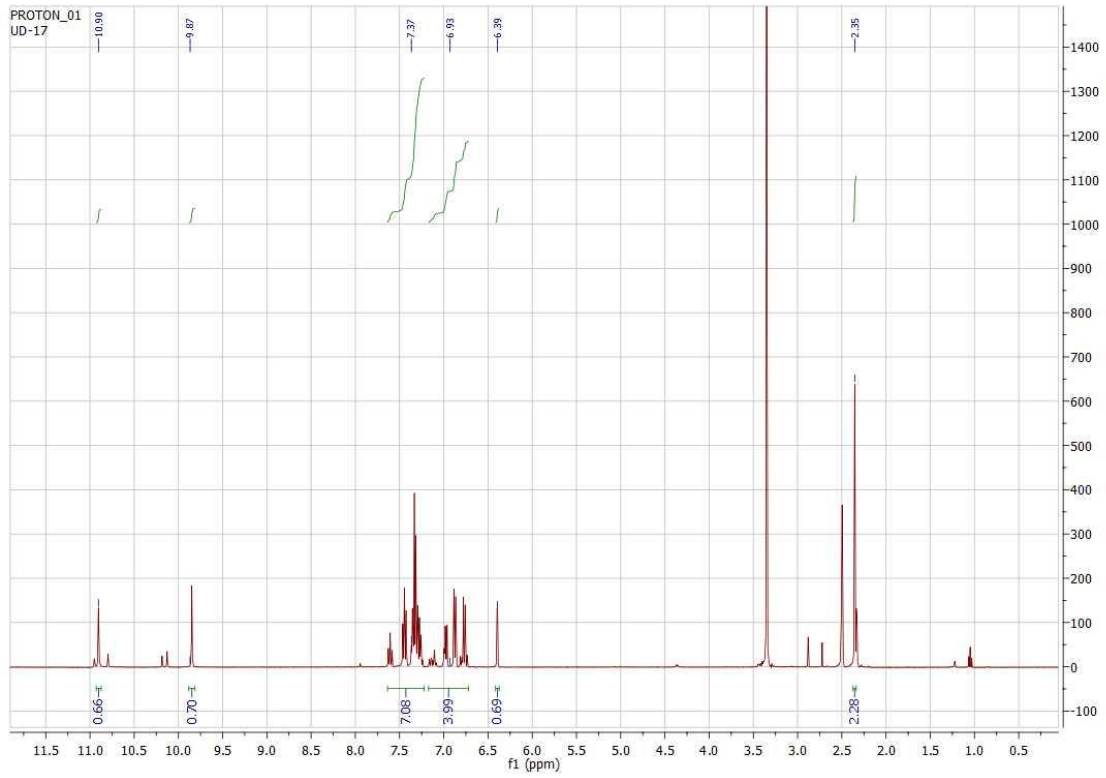
^{13}C -NMR Spektrumu: (DMSO- d_6) δ ppm

^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.90 (C=O), 154.64 (C=N), 150.11 (=N-C), 144.29 (C-NH-S), 143.56, 136.54, 131.92, 130.24, 130.21, 130.03, 128.74, 128.63, 127.16, 127.08, 125.59, 119.69, 119.64, 117.60, 116.15, 112.33, 21.43 (Me).

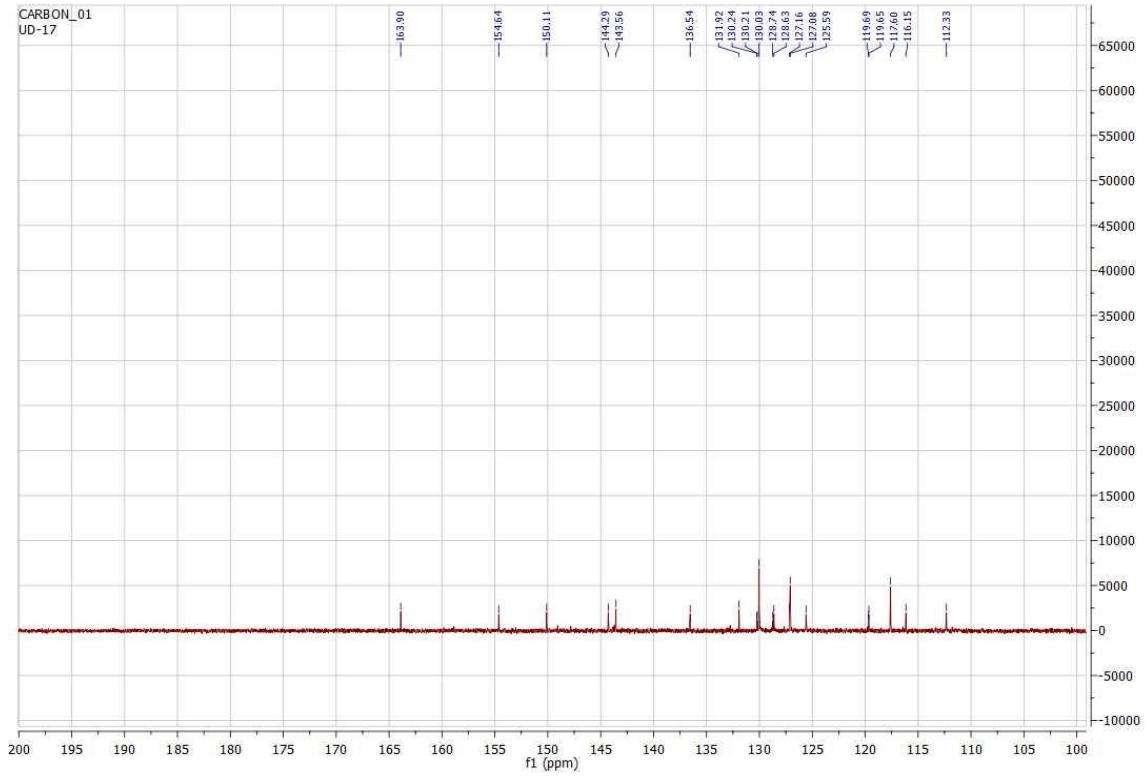
Kütle Spektrumu: LC-MS m/z 392.69 [MH^+].



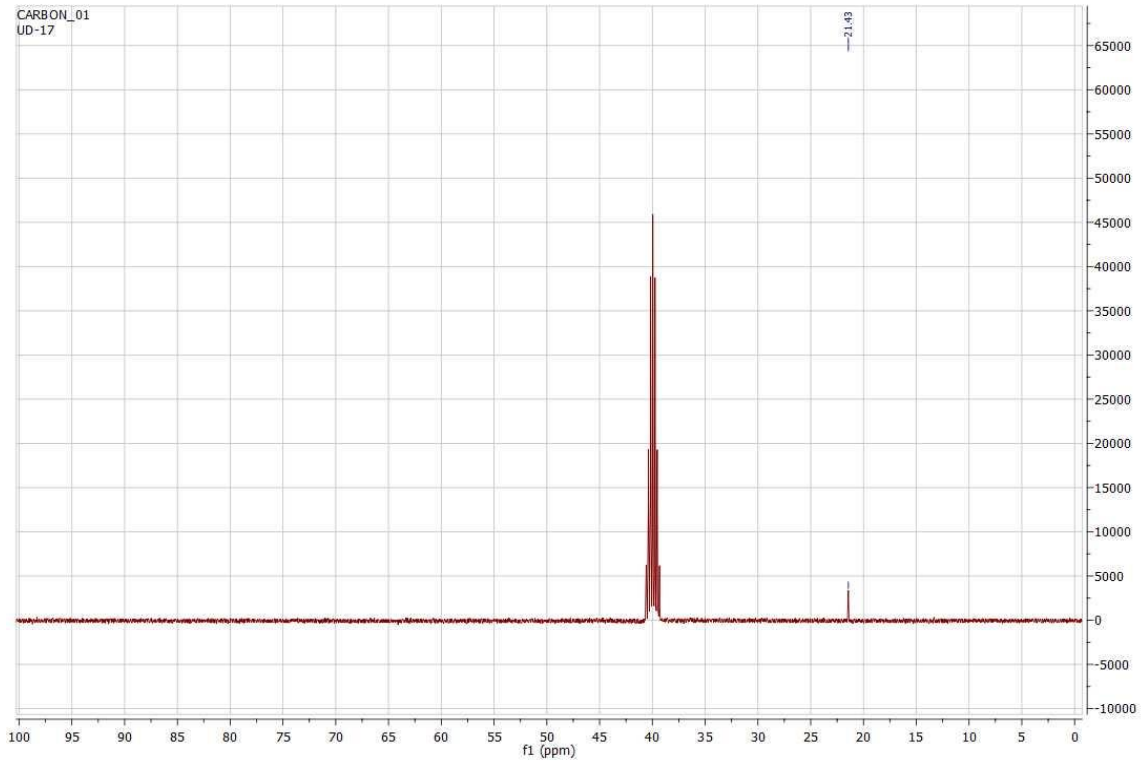
Şekil 4.84: Bileşik 8g'nin IR spektrumu.



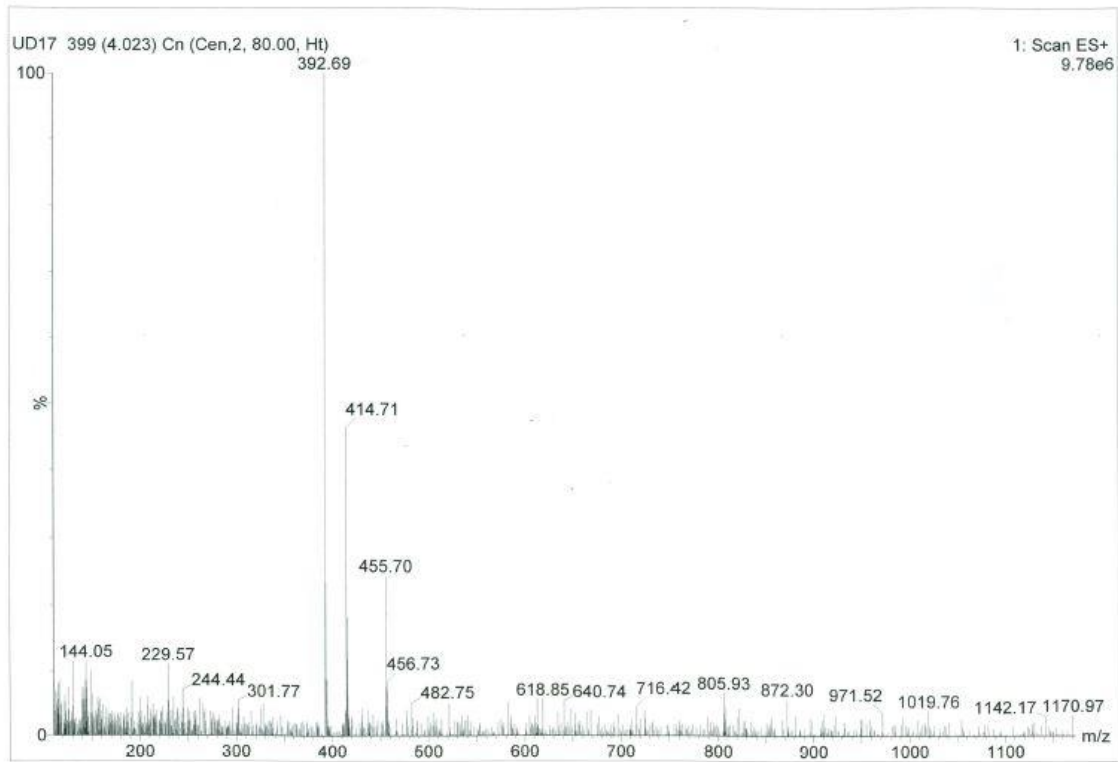
Şekil 4.85: Bileşik 8g'nin ^1H -NMR spektrumu.



Şekil 4.86: Bileşik 8g'nin ^{13}C -NMR spektrumu.

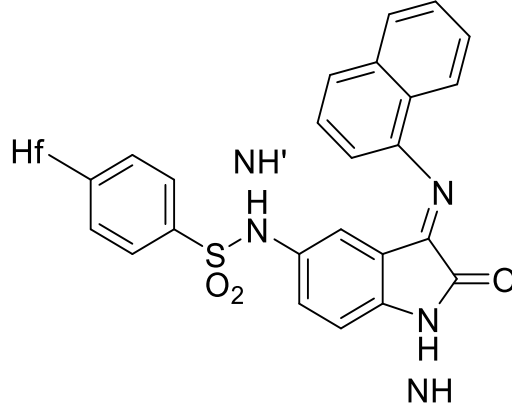


Şekil 4.87: Bileşik 8g'nin ^{13}C -NMR spektrumu devamı.



Şekil 4.88: Bileşik 8g'nin kütle spektrumu

4.2.16. (E/Z)-4-metil-N-(3-(naftalen-1-ilimino)-2-oksoindolin-5-il)benzensülfonamid Sentezi (8h)



Bileşik 6b (1 mmol), α -naftilamin (1,5 mmol) ve *p*-toluensülfonik asit (10 mg) metanol (30 ml) içerisinde çözüldü. Çözelti 8 saat 80 °C karıştırıldı. Sonrasında çözücünün fazlası evapore edildi, elde edilen derişik çözeltiye soğuk etanol ilave edildi, çöken katı madde dekantasyonla ayrıldı ve soğuk etanolle yıkandı. Katı madde oda sıcaklığında kurutuldu. Kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (CHCl₃: MetOH; 96:4) Verim: %48.

EN: 142-145 °C

IR Spektrumu: IR (KBr) $\nu_{\max}$

3290 (NH), 3130 (isatin NH), 1735 (C=O), 1620 (C=N) cm⁻¹

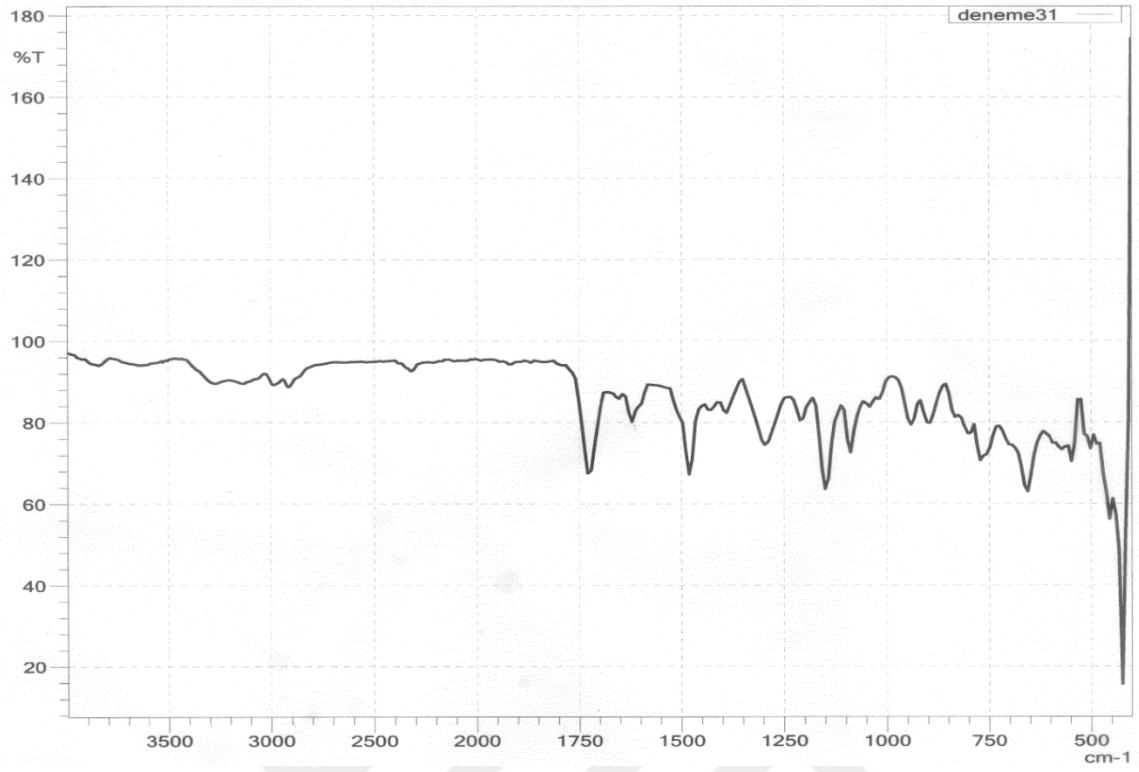
¹H-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10.94 (s, 1H, NH), 9.80 (s, 1H, NH'), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.88 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, Ar-H), 7.75 – 7.35 (m, 5H, Ar-H), 7.24 – 7.02 (m, 3H, Ar-H), 7.00 – 6.74 (m, 3H, Ar-H), 6.31 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, Ar-H), 2.29 (s, 3H, Hf).

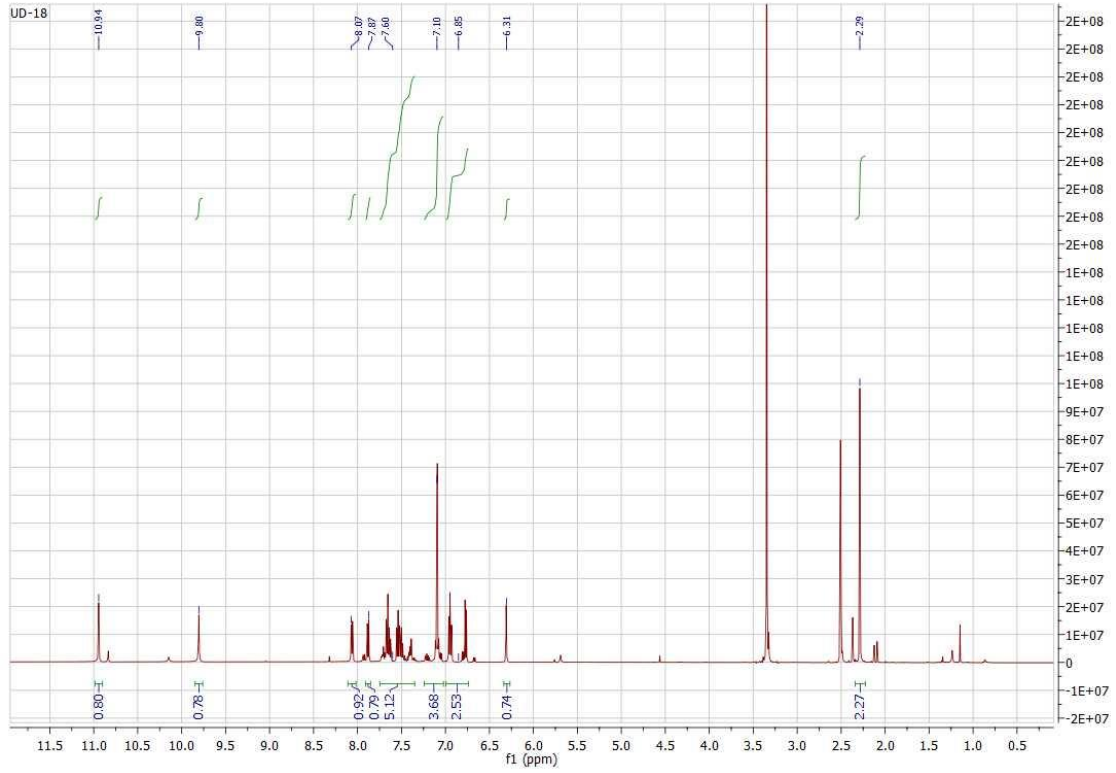
¹³C-NMR Spektrumu: (DMSO-*d*₆) δ ppm

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 163.75 (C=O), 155.84 (C=N), 146.49 (=N-C), 144.16 (C-NH-S), 143.44, 136.36, 134.39, 132.13, 130.22, 129.88, 128.68, 127.85, 127.29, 127.17, 126.95, 126.51, 126.19, 125.63, 124.35, 123.35, 118.41, 116.28, 112.41, 111.94, 21.39 (Me).

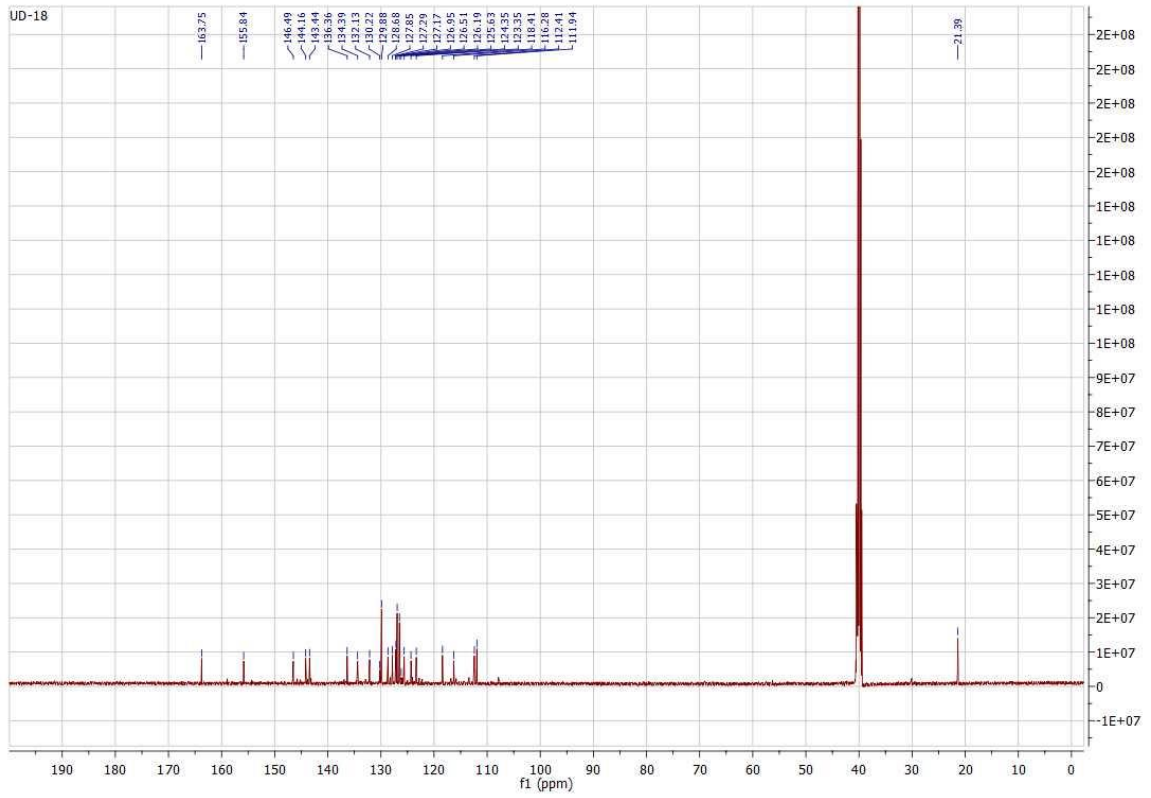
Kütle Spektrumu: LC-MS *m/z* 442.66 [MH⁺].



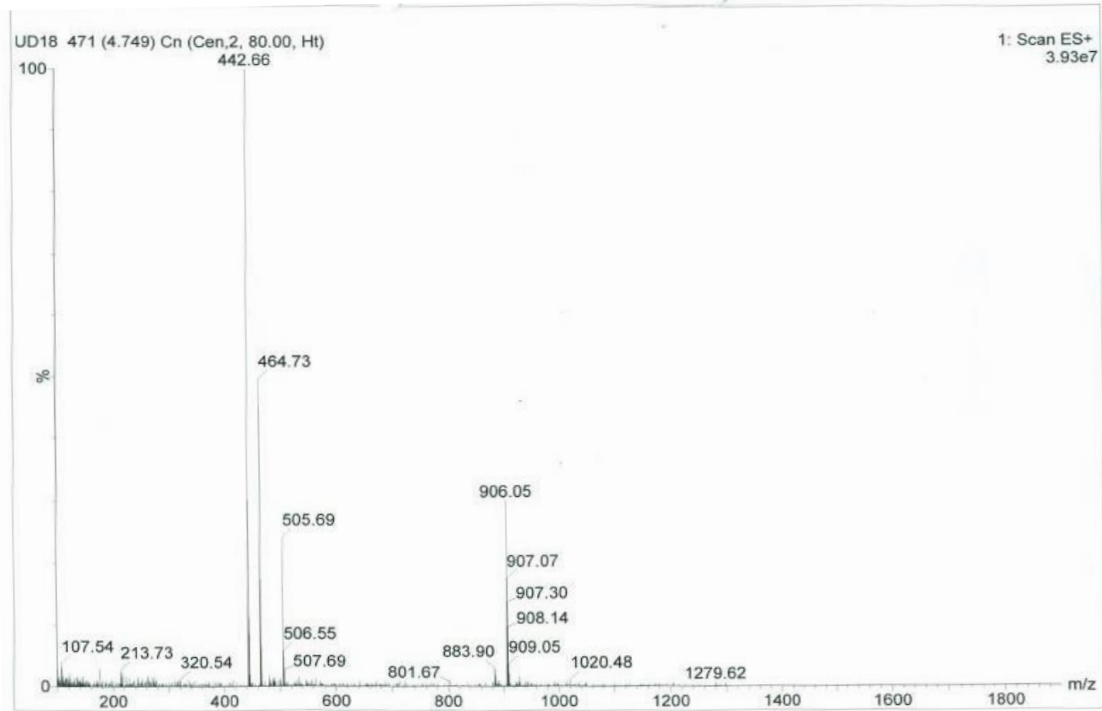
Şekil 4.89: Bileşik 8h'nin IR spektrumu.



Şekil 4.90: Bileşik 8h'nin ¹H-NMR spektrumu.



Şekil 4.91: Bileşik 8h'nin ^{13}C -NMR spektrumu.



Şekil 4.92: Bileşik 8h'nin kütle spektrumu

4.3. SENTEZLENEN TÜREVLERİN ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI

4.3.1. Hücre Kültürü Çalışmaları

İnsan hepatoselüler karsinomu (HepG2, HB-8065TM), insan prostat adenokarsinomu (PC-3, CRL-1435TM), insan akciğer karsinomu (A549, CCL-185TM), insan nöroblastomu (SH-SY5Y, CRL-2266TM) ve fare fibroblast hücre hatları (NIH/3T3, CRL-1658TM), American Type Culture Collection'dan (ATCC, ABD) elde edildi. Tüm hücre hatları 37°C 'de %5 CO₂ içeren nemli ortamda inkübe edilmiştir. HepG2, PC-3 ve A549, NIH/3T3 hücreleri Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medium:Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12, Wisent Bioproducts, Kanada) besiyeri içerisinde ve SH-SY5Y hücreleri 1:1 oranlı Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, Wisent Bioproducts, Kanada) ve Dulbecco's Modified Eagle Medium:Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12) besiyeri karışımı içinde kültüre edilmiş olup ayrıca, besiyerleri %10 fetal sığır serumu ve antibiyotikler (%1 penisilin ve %1 streptomisin) ile desteklendi. Pasajlama işlemi, flask yüzeyinde tek tabakalı hücre yoğunluğu %80-85 ulaştığında (2-3 günde bir) tripsinizasyon ile gerçekleştirildi (Mosmann, 1983).

4.3.2. *In Vitro* Sitotoksikite Testleri (MTT Testleri)

Sentezlenen bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, dört farklı insan kanser hücre hattı ve bir kanserli olmayan hücre hattı kullanılarak MTT testi ile *in vitro* olarak değerlendirildi. MTT testi, mitokondriyal bağımlı bir reaksiyon yoluyla sarı tetrazolyum tuzunun indirgenmesiyle çözünmeyen bir mor formazan kristali oluşumu vasıtası hücrelerin canlılığını değerlendirir. Madde uygulamasından 24 saat öncesinde hücreler, her bir kuyucuğa 1×10^4 hücre yoğunluğunda 96 kuyulu plakalara ekimi yapıldı ve hücrelerin bağlanmasına izin vermek için her kuyucukta 100 µL besiyeri eklenerek gece boyunca inkübe edildi. Her bir test bileşiği, DMSO içinde çözündürülüp, seyreltilerek 6 farklı konsantrasyonda hazırlandı. Bir sonraki gün hücreler, hedef bileşiklerin (31.25-1000 uM) farklı konsantrasyonları ile 24 saat muamele edildi. Sonrasında, MTT reaktifi eklenerek hücreler 3 saat inkübe edildi ve çözündürülmüş formazan kristalleri için her bir kuyuya 100 µL DMSO ilave edildi. Test maddesi içermeyen büyüme kontrol grubu kuyucuklara %0,5 DMSO ve %0,1 SDS (pozitif kontrol) eklenerek ve çözücü kontrol grubu kuyucuklara %1 DMSO eklenerek hazırlandı. Test bileşiklerinin çözünmesi için araç olarak DMSO'nun hücreler üzerindeki son

konsantrasyonu %0,5 olarak hazırlandı. Çözücü ve büyüme kontrollerin hücre sayıları arasında fark bulunmamaktadır. Seçilen referans ilaç Doksorubisin, 3,25-100 uM konsantrasyon aralığındaki dozlar için pozitif kontrol olarak kullanıldı. Tüm deney koşulları eş üç kuyucuklu olarak test edildi ve deney üç kez tekrar edildi (Karaman ve Ozden, 2019).

4.3.3. Sentezlenen Türevlerin Antikanser Aktivite Sonuçları

Sentezlenen sonuç bileşiklerinin antikanser aktiviteleri saptamak için dört farklı insan kanser hücre hattında (PC-3, HepG2, SH-SY5Y ve A549) sitotoksik aktiviteleri doksorubisin ile karşılaştırmalı olarak test edildi. Sonuçlar, hücre canlılığının %50 azalmasına neden olan konsantrasyonlar olarak ifade edilen IC₅₀ değerleri şeklinde hesaplandı. Bileşiklerin test sonuçları ve IC₅₀ değerleri Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1: Sonuç bileşiklerinin kanserli ve sağlıklı hücrelerde MTT testi kullanılarak elde edilen IC₅₀ (uM) değerleri.

Bileşikler	PC-3		HepG2		SH-SY5Y		A549		NIH/3T3
	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}
7a	155 ± 13.22	-	31.97 ± 4.32	-	nd (>1000)	-	401.7 ± 28.96	-	nd (>1000)
7b	149 ± 11.94	-	42.13 ± 4.04	-	182.77 ± 12.18	-	338.5 ± 22.64	-	nd (>1000)
7c	113.98 ± 10.92	-	31.5 ± 3.82	-	nd (>1000)	-	411.9 ± 15.07	-	nd (>1000)
7d	151.89 ± 12.7	2.13	47.98 ± 5.18	6.76	115.97 ± 9.92	2.79	nd (>1000)	-	324.5 ± 23.05
7e	nd (>1000)	-	336.5 ± 20.94	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)
7f	nd (>1000)	-	136.57 ± 9.49	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)
7g	nd (>1000)	-	226.37 ± 0.44	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)	-	nd (>1000)
7h	102.37 ± 9.71	2.85	32.59 ± 2.93	8.94	174.59 ± 13.72	1.67	929.24 ± 27.56	0.31	291.5 ± 16.34
8a	277.5 ± 25.33	1.37	43.44 ± 3.14	8.77	64 ± 6.78	5.95	657.05 ± 43.15	0.58	381 ± 32.51
8b	312.8 ± 20.66	0.91	63.05 ± 7.56	4.52	153.85 ± 11.42	1.85	813.87 ± 52.27	0.35	285.1 ± 20.05
8c	289 ± 23.62	1.42	178.5 ± 11.57	2.3	299 ± 25.23	1.37	967.5 ± 47.36	0.42	410.56 ± 32.98
8d	222.75 ± 20.03	1.48	202.5 ± 19.79	1.63	235.6 ± 19.73	1.4	nd (>1000)	-	331.15 ± 28.13
8e	222.5 ± 21.02	1.35	60 ± 4.86	5.02	187.96 ± 14.16	1.6	361 ± 21.94	0.83	301.5 ± 23.21
8f	201.4 ± 18.12	1.6	37.81 ± 5.05	8.57	122.79 ± 17.23	2.64	309.8 ± 20.91	1.04	324.2 ± 20.51
8g	218 ± 14.89	1.36	57 ± 4.63	5.22	241.5 ± 17.89	1.23	331.5 ± 18.79	0.89	297.5 ± 25.62
8h	253.5 ± 22.32	1.29	122.5 ± 10.13	2.68	61.47 ± 7.64	5.36	nd (>1000)	-	329.3 ± 19.72
doksorubisin	25.52 ± 4.8		51.15 ± 9.9		51.11 ± 5.38		13.53 ± 2.5		53.8 ± 6.8

a) IC₅₀ = in vitro test edilmiş hücrelere karşı %50 sitotoksik konsantrasyon. Veriler, üç ayrı deneyin ortalamasıdır ve ±SD değeri olarak sunulur.

b) SI = Seçicilik indeksi-normal hücreye göre IC₅₀ değeri.

nd = Belirlenmedi. Bu nedenle bazı bileşikler için SI indeksi hesaplanamamıştır.

Elde edilen sonuçlara göre bileşiklerden **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** (IC_{50} =31.97, 42.13, 31.50, 47.98, 32.59, 43.44 ve 37.81) **HepG2** üzerinde doksorubisinden aktif türevler olarak bulundu.

4.4. SENTEZLENEN TÜREVLERİN MOLEKÜLER DOCKİNG ÇALIŞMALARI

Hepatit C Virüsüne ait NS5B polimeraz enziminin kristal yapısı, Protein Veri Bankasından (PDB, <http://www.rcsb.org>) elde edildi. Sonuç bileşiklerin üç boyutlu yapıları ChemDraw Ultra 15'te çizildi, ardından ChemBio Ultra 15'de enerji minimizasyonları yapıldı. Enerji minimizasyonu yapılan bileşiklerin Autodock ile uyumlu hale gelmesi için dosyalar pdbqt formatına dönüştürüldü.

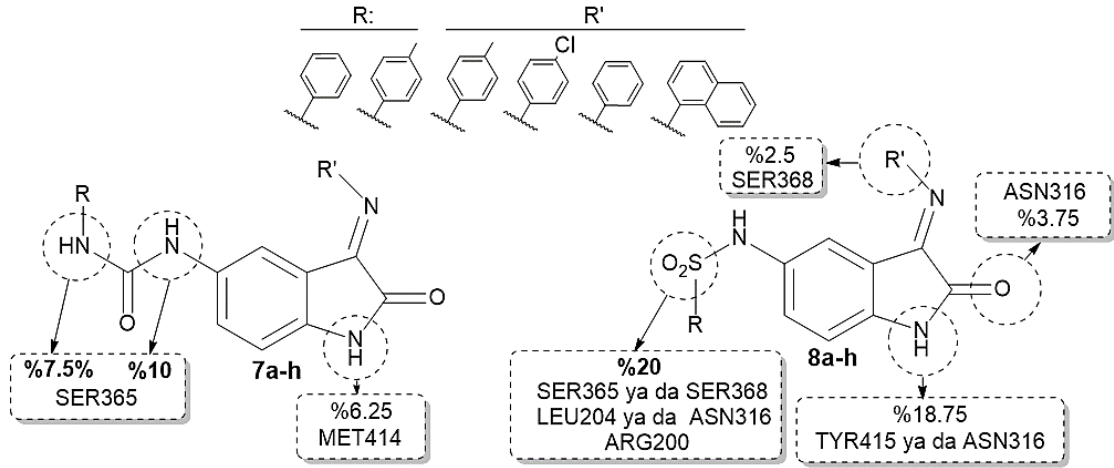
Docking çalışması AutoDock vina 4.2.6 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi ve 3D bileşik-protein docking verileri Pymol 4.2.6 kullanılarak analiz edildi. Docking çalışmaları öncesinde tüm su molekülleri ilgili proteinlerden çıkarıldı ve proteine polar hidrojenler eklendi. Docking çalışmaları esnasında grid kutusu, karşılık gelen enzim için 30x30x30'luk bir hacimsel boşluğa ayarlandı (PDB ID: 3FQK).

Bileşiklerin docking sonuçlarından en düşük bağlanma enerji ve RMSD değerine ve en yüksek hidrojen bağı yapma potansiyeline sahip konformasyonlar seçildi. Bu bağlamda bileşik 7c'nin en küçük RMSD (0.13) değeri ile en düşük bağlanma enerjisine (-11.04 kcal/mol) sahip olduğu görüldü.

4.4.1. Sentezlenen Türevlerin Docking Sonuçları

Tez kapsamında 8 adet 5. konumda üre fonksiyonel grubuna 3. konumda Schiff bazı fonksiyonel grubuna sahip isatin türevleri ve 8 adet 5. konumda sülfonamid fonksiyonel grubuna 3. konumda Schiff bazı fonksiyonel grubuna sahip isatin türevleri olmak üzere toplamda 16 adet yeni bileşik sentezlendi. Docking programı olarak AutoDock vina 4.2.6 ve 3D bileşik-protein docking verilerinin analizi için Pymol 4.2.6 kullanıldı. İlgili bileşiklerin bağlanma enerjileri (serbest bağlanma enerjisi kcal/mol cinsinden), RMSD (Root Mean Square Deviation) değerleri enzim aktif bölgesindeki yerleşimleri ve bileşiklerin hidrojen bağı yapma özellikleri değerlendirildi. Sentezlenen bütün bileşiklerin enzim aktif bölgesine yerleştiği ve üre grubunun SER365, sülfonamid grubunun SER365, SER368, LEU204, ASN316 ve ARG200 isatinin NH grubunun MET414 ya da TYR415, ASN316 amino asitleriyle hidrojen bağı yaptığı gözlenirken sülfonamid türevlerinde isatinin ikinci

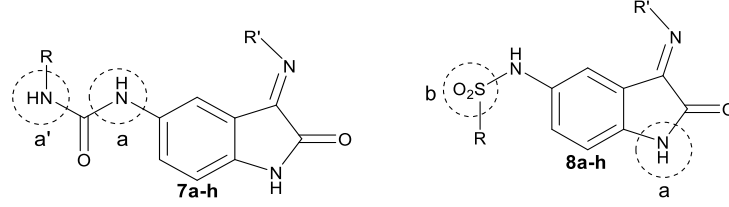
konumundaki karbonil oksijeninin ASN316 aktif yöre aminoasidiyle, Schiff bazı grubunun SER368 aktif yöre aminoasidiyle hidrojen bağı yaptığı gözlemlendi. Üre türevleri için 80, sülfonamid türevleri 80 tane olmak üzere toplamda 160 adet konformasyonun docking sonuçları incelendi ve her bir fonksiyonel grubun hidrojen bağı yapma yüzdeleri tablo Şekil 4.93'te sunuldu.



Şekil 4.93: Her seri için sekiz bileşiğin 80, toplamda 160 konformasyonda işaretli fonksiyonel grupların hidrojen bağlama yüzdeleri. (HCV'nin NS5B polimerazının aktif bölgesinde)

Sonuç bileşiklerinin dokcing sonuçlarından her bir bileşik için en küçük bağlanma enerjisi ve en küçük RMSD değerleri seçildi ve seçilen konformasyonlarda hidrojen bağı yapma özellikleri incelendi elde edilen sonuçlar Tablo 4.2'de sunuldu.

Tablo 4.2: Seçilen konformasyonlarda serbest bağlanma enerjileri, hidrojen bağı uzaklıkları ve RMSD değerleri.

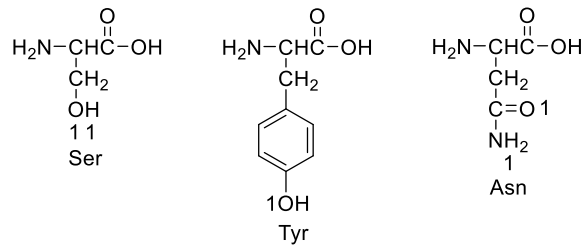


Bileşik	R	R'	Bağlanma Enerjisi (kcal mol ⁻¹)	RMSD Değeri	Hidrojen Bağı (Uzaklık Å°)
7a	Ph	Ph(p-CH ₃)	-8.39	0.36	
7b	Ph	Ph(p-Cl)	-7.78	0.19	
7c	Ph	Ph	-11.04	0.13	a ile SER365 O-1 (2.104) a' ile SER365 O-1 (2.128)
7d	Ph	Naftil	-10.01	0.36	
7e	Ph(p-CH ₃)	Ph(p-CH ₃)	-8.68	0.45	
7f	Ph(p-CH ₃)	Ph(p-Cl)	-8.01	0.19	
7g	Ph(p-CH ₃)	Ph	-10.26	0.26	
7h	Ph(p-CH ₃)	Naftil	-8.96	0.31	
8a	Ph	Ph(p-CH ₃)	-10.18	0.33	b ile SER368 H-1 (1.768)
8b	Ph	Ph(p-Cl)	-10.36	0.13	a ile TYR415 O-1 (2.169)
8c	Ph	Ph	-11.86	0.38	a ile ASN316 O-1 (1.816)
8d	Ph	Naftil	-9.99	0.59	b ile ASN316 H-1 (2.162)
8e	Ph(p-CH ₃)	Ph(p-CH ₃)	-10.10	0.63	b ile SER365 H-1 (2.108)
8f	Ph(p-CH ₃)	Ph(p-Cl)	-10.13	0.20	b ile SER365 H-1 (2.177)
8g	Ph(p-CH ₃)	Ph	-9.75	0.31	b ile SER368 H-1 (2.153)
8h	Ph(p-CH ₃)	Naftil	-11.35	0.57	b ile SER368 H-1 (1.977)

^a En düşük bağlanma enerji değerleri, reseptör aktif bölgesi ile daha iyi etkileşim gösterir.

^b En düşük RMSD değerleri, bileşiklerin aktif bölgeye yakınlığını gösterir.

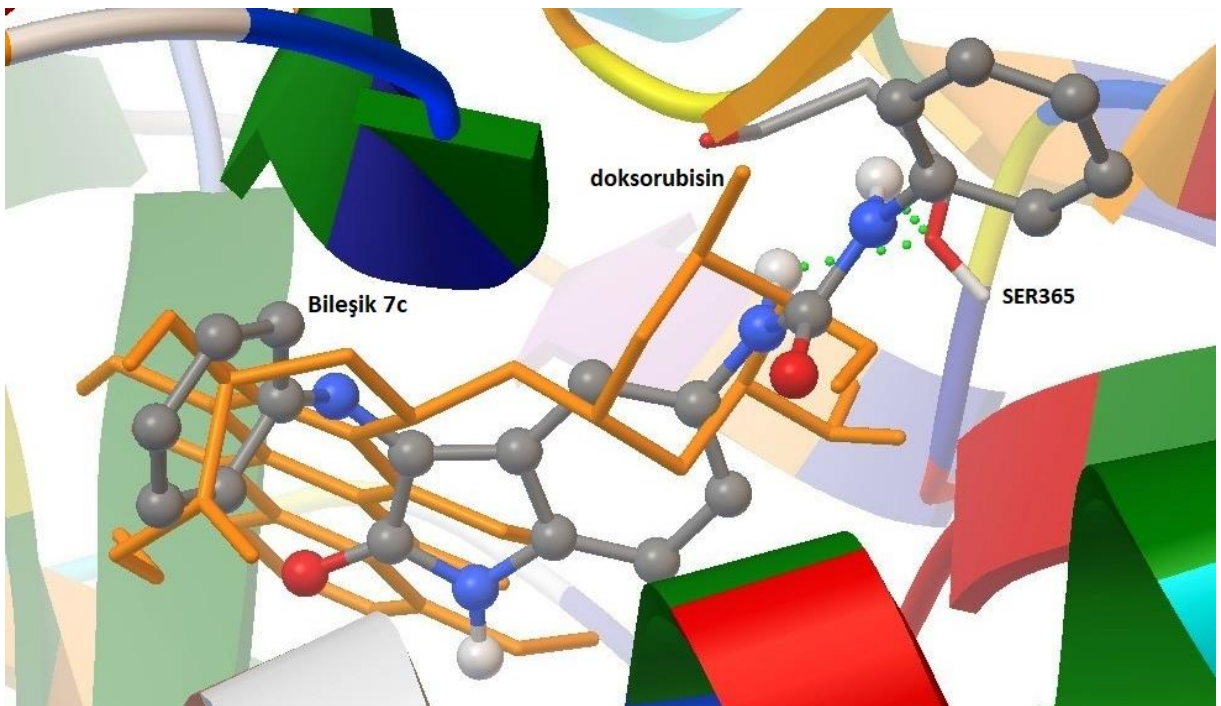
^c Amino asitlerin hidrojen bağlarının mesafesi.



Docking sonuçlarından, üre türevlerinin bileşik 7c hariç enzimle hidrojen bağı yapmadığı gözlemlendi. Bileşik 7c'nin üre gruplarının SER365 aktif bölge aminoasidiyle hidrojen bağı

yapabildiği gözlemlendi. Sülfonamid türevlerinin, sülfonamid grubunun SER365, SER368 ya da ASN316 amino asitleriyle hidrojen bağı yaptığı gözlemlenirken, isatin halka sisteminin NH grubunun TYR415 ya da ASN316 aktif bölge aminoasidiyle hidrojen bağı yapabildiği gözlemlendi.

En düşük bağlanma ve RMSD değerine sahip bileşik 7c'nin referans ilaç olarak kullanılan doksorubisin ile enzim aktif bölgesinde, aktif bölge aminoasidiyle etkileşimleri görselleştirildi.



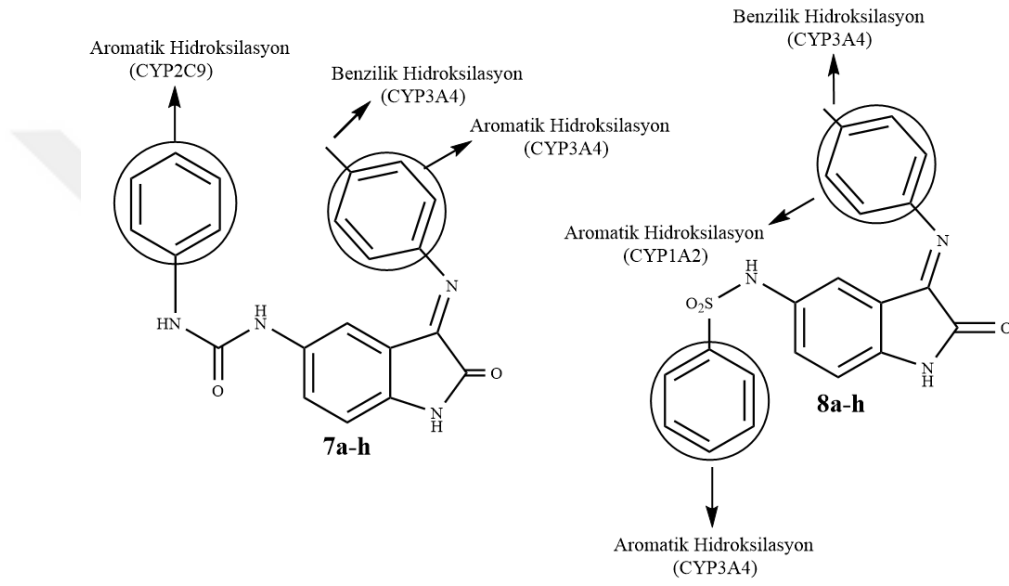
Şekil 4.94: NS5B polimerazın (PDB ID: 3FQK) bağlanma bölgesindeki doksorubisin (turuncu renk) en aktif bileşik 7c (çubuk ve top) 3 boyutlu yapısal etkileşimi.

4.5. SENTEZLENEN TÜREVLERİN ADME TAHMİNLERİ

Bu *in silico* çalışma, isatin üre ve sülfonamid türevlerinin yeni sentezlenmiş Schiff bazlarının sitokrom P450 (CYP) metabolizmasını tahmin etmek amacıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla, ADMET Predictor™. SimulationsPlus Inc., USA, CYP izoformları 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 ve 3A4 için Metabolizma modülü CYP substrat/substrat olmayan sınıflandırma modelleri ile kullanıldı. Metabolitler, SOM modelleri tarafından tahmin edilen dönüşümleri belirtmek için SMIRKS dizileri (bir reaksiyon dönüştürme dili) kullanılarak üretildi. CYP kinetik parametreleri ANNE regresyon modellerinden tahmin edildi.

4.5.1. Sentezlenen Türevlerin ADME Tahminleri Sonuçları

İlaç adaylarının neredeyse yarısı, uygun olmayan farmakokinetik profilleri nedeniyle geliştirme sürecinde başarısız olduğu için ilaç adaylarının ADMET özelliklerinin incelenmesi, ilaç geliştirme sürecinde önemli hale gelmiştir. Metabolizma tahmin sonuçları, sentezlenen türevlerin esas olarak üç CYP izoformunun (2C19, 3A4 ve 3A1) aracılık ettiği CYP metabolizmasını ortaya koydu. Sonuçlar incelendiğinde metabolik reaksiyonlar olarak genellikle aromatik hidroksilasyon (CYP3A4) ve benzilik hidroksilasyon gözlemlendi.



Şekil 4.95: Üre ve sülfonamid türevlerinin isatin Schiff bazlarının metabolik yolları.

Bileşiklerin moleküler ağırlığı, log P, PSA, BBB'yi geçme, GI absorpsiyon özellikleri ve CYP450 tipi inhibisyon değeri Tablo 4.3'te sunulmuştur. Ayrıca tüm bileşiklerin lipid bariyerini geçmek için oldukça makul değerlere sahip olduğu ve Lipinski'nin Beş Kuralına uyduğu görülmüştür.

Tablo 4.3: Bileşiklerin ADME Tahmin Değerleri

Bileşik	MA (g/mol) ^a	LogP ^b	PYA ^c	KBB ^d	GE Abs. ^e	CYP P450 İnhibisyon Türü ^f	Lipinski Uy. ^g
7a	370.40	3.25	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7b	390.82	3.47	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7c	356.38	2.92	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7d	406.44	3.82	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7e	384.43	3.45	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7f	404.85	3.80	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7g	370.40	3.26	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7h	420.46	4.15	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8a	391.44	2.97	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8b	411.86	3.25	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8c	377.42	2.72	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8d	427.48	3.51	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8e	405.47	3.40	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8f	425.89	3.54	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8g	391.44	2.94	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8h	441.50	3.86	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal

a Molekül ağırlığı (önerilen değer <500)

b bileşiğin n-oktanol ve su arasındaki dağılıma katsayısının logaritması
(önerilen değer <5)

c Polar yüzey alanı (önerilen değer ≤140Å²)

d Bileşiğin Kan Beyin Bariyerini geçip geçmediğini gösterir

e Gastrointestinal Emilim Derecesi

f CYP450 alt tiplerinin inhibisyonunu temsil eder

g Bileşiğin Lipinski'nin Beşli Kuralına uyup uymadığını gösterir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. HEDEF BİLEŞİKLERİN TASARIMI VE SENTEZİ

Bu tez kapsamında, bileşik **1** ve **2**, sırasıyla yayınlanmış yöntemlere (Li vd., 2014; Magiatis vd., 2010) göre sentezlenmiştir. Üre ve sülfonamid türevleri sentezine başlanmadan önce (**5a,b** ve **6a,b**) 5-nitro isatinin üçüncü pozisyonundaki okso grubu 2,2-Dimetil-1,3-propandiol ile ketal formuna dönüştürerek korundu böylece bileşik **1** elde edildi. Bu korumanın amacı bileşik **2** sentezlenirken kullanılan re ajanların üçüncü konumdaki okso grubunu indirgememesini önlemektir. Daha sonra bileşik **2**'de mevcut olan nitro grubu, metanol içinde 1 atm basınçta H₂/Pd-C (%10) katalizörü kullanılarak amine indirgendi. Elde edilen amin grubundan, karşılık gelen izosiyanatlarla (fenil izosiyanat, *p*-tolil izosiyanat) reaksiyona sokulan bileşik **2**'den üre türevleri sentezlendi (**3a,b**). Sülfonamid türevlerinin (**4a,b**) sentezi için bileşik **2**'nin amin grubundan karşılık gelen sülfonil klorürler ile (benzensülfonil klorür, *p*-toluensülfonil klorür) reaksiyon gerçekleştirildi. İsatın üzerinden, üçüncü konumdaki korumanın kaldırılmasından sonra, üre ve sülfonamid türevlerinin Schiff bazları (**7a-h** ve **8a-h**), karşılık gelen aromatik amin türevleriyle (*p*-toluidin, *p*-kloroanilin, anilin, α -naftilamin) *p*-toluensülfonik asit katalizörlüğünde sentezlendi Şekil 3.1. Ara ürünlerin yapıları ¹H-NMR, LC-MS, IR spektroskopisi ve erime noktası tayiniyle karakterize edildi. Sonuç bileşiklerin yapıları ise ¹H-NMR, ¹³C NMR, LC-MS, IR spektroskopisi ve erime noktası tayiniyle karakterize edildi.

Ara ürünlerden olan üre türevlerinin (**3a,b**) ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde isatine ait NH pikleri sırasıyla 10.27 ve 10.26 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü (Gencer vd., 2014). Üre gruplarının NH pikleri ise bileşik **3a** için 8.56 ppm'de dublet bir pik, bileşik **3b** için ise 8.53 ve 8.44 ppm'de singlet pikler olarak görüldü (Gencer vd., 2014). Bileşik **3a**'da üre piklerinin dublet olarak görülmesi, üre grubunun her iki taraftan benzer elektronik çevrelere sahip olmasıyla açıklanabilir. Benzer bir durum literatürde 1,3-difenilüre'de mevcuttur, ilgili bileşikte üre protonları iki hidrojen integrasyonuna sahip singlet bir pik olarak görülmüştür (Lee vd., 2004). Bileşik **3b**'ye bakıldığında üre protonları aromatik halkanın para konumundaki metil grubunun etkisiyle benzer elektronik çevrelere sahip olamadığı için singlet pikler olarak gözlemlenmiştir. Metil grubunun etkisi bileşik **3a** ve **3b**'nin üre protonlarının kimyasal kayma değerlerinde de gözlemlenmiştir. Aromatik halkanın, metil

grubu etkisiyle elektron yoğunluğu aratan para konumuna yakın durumda olan NH'' protonu düşük alana kayarak 8.44 ppm'de gözlemlenmiştir (Gencer vd., 2014). Aromatik halkann para konumundaki metil grubunun etkisi Hb ve Hd aromatik protonlar üzerinde de etkili olarak, metil grubunun kendisine göre orto konumunda bulunan Hb ve Hd protonlarının elektron yoğunluğunu artırarak bileşik **3a** için 7.26 ppm'deki piki bileşik **3b**'de 7.07 ppm'e taşımıştır. İsatine ait H4, H6 ve H7 protonları bileşik **3a** için sırasıyla 7.63 ppm'de singlet, 7.26 ppm'de multipler (Hb, Hd aromatik protonlar ile birlikte) 6.73 ppm'de dublet pikler olarak görülürken, bileşik **3b** için sırasıyla, 7.62 ppm'de singlet 7.21 ppm'de dublet 6.72 ppm'de dublet pikler olarak görülmüştür (Beauchard vd., 2006; Silva vd., 2001). İsatinin üçüncü konumunda bulunan ketal grubunun CH₂ protonları bileşik **3a**'da 4.52 ppm'de dublet ve 3.48 ppm'de dublet iki pik olarak, bileşik **3b**'de 4.51 ppm'de dublet, 3.48 ppm'de dublet iki pik olarak görülmüştür (Li d., 2014; Yu vd., 2019). İlgili CH₂ piklerinin, beklenen singlet pik yerine, dublet olarak gözlenmesi ketal grubunun konformasyonu sebebiyle CH₂ protonlarının eşdeğer elektronik çevreye sahip olmaması ve geminal etkileşim sonucu ile dublet pikler halinde görülmesi olarak açıklanabilir.

Ara ürünlerden olan sülfonamid türevlerinin (**4a,b**) ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde isatine ait NH pikleri sırasıyla 10.41 ve 10.40 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü. Sülfonamid grubunun NH piki ise bileşik **4a** için 10.03 ppm'de singlet bir pik, bileşik **4b** için ise 9.96 ppm'de singlet bir pik olarak görüldü (Galiana-Rosello vd., 2013). Bileşik **4b**'nin sülfonamid grubunun NH pikinin düşük alana kayması aromatik halkanın para pozisyonundaki metil grubunun elektron salıcı etkisinin bir sonucu olarak yorumlanabilir (Dea-Ayuela vd., 2009). İsatine ait H4, H6 ve H7 protonları bileşik **4a** için sırasıyla 7.03 ppm'de singlet, 7.59 ppm'de dublet, 6.65 ppm'de dublet pikler olarak görülürken, bileşik **4b** için sırasıyla, 7.01 ppm'de singlet 6.96 ppm'de dd 6.65 ppm'de dublet pikler olarak görülmüştür. Aromatik halkann para konumundaki metil grubunun etkisi Hb ve Hd aromatik protonlar üzerinde de etkili olarak, metil grubunun kendisine göre orto konumunda bulunan Hb ve Hd protonlarının elektron yoğunluğunu artırarak bileşik **4a** için 7.52 ppm'deki piki bileşik **4b**'de 7.32 ppm'e taşımıştır. Bileşik **3a** ve **3b**'dekine benzer olarak isatinin üçüncü konumunda bulunan ketal grubunun CH₂ protonları bileşik **4a** ve **4b**'de 4.40 ppm'de dublet ve 3.41 ppm'de dublet pikler olarak, olarak görülmüştür (Li d., 2014; Yu vd., 2019).

Ketal grubunun hidrolizi ile elde edilen, üre türevlerinden olan bileşik **5a** ve **5b**'nin ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde isatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.89 ve 10.88 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü. Hidroliz öncesinde ketal grubuna sahip üre türevlerinden olan bileşik **3a** ve **3b**'de isatine ait NH pikleri sırasıyla 10.27 ve 10.26 ppm'de görülmüşlerdi. Hidroliz sonrası tekrar ikame olan karbonil grubunun elektron çekici etkisi sebebiyle bileşik **5a** ve **5b**'nin isatine ait NH piklerinin düşük alana kaydığı gözlemlendi (Gencer vd., 2014). Ketal grubun hidrolizi öncesinde bileşik **3a** ve **3b**'de gözlemlenen şekilde üre gruplarının NH pikleri ise bileşik **5a** için 8.68 ppm'de dublet bir pik, bileşik **5b** için ise 8.64 ve 8.55 ppm'de singlet pikler olarak görüldü (Gencer vd., 2014). Bileşik **5a**'da üre piklerinin dublet olarak görülmesi, üre grubunun her iki taraftan benzer elektronik çevrelere sahip olmasıyla açıklanabilir. Bileşik **5b**'de, aromatik halkanın para pozisyonundaki metil grubu, üre protonlarının benzer elektronik çevreye sahip olmalarının önüne geçmesiyle üre protonları 8.64 ve 8.55 ppm'de singlet pikler olarak görüldü. Metil grubunun aromatik halkanın para konumunu elektronca zenginleştirmesi, üre grubunun NH protonlarının, özellikle aromatik halkanın para konumuna yakın durumda olan NH'' protonunun daha düşük alanda görülmesine sebep olmuştur (Gencer vd., 2014). Aromatik halkanın para konumundaki metil grubunun etkisi Hb ve Hd aromatik protonlar üzerinde de etkili olarak, metil grubunun kendisine göre orto konumunda bulunan Hb ve Hd protonlarının elektron yoğunluğunu artırarak bileşik **5a** için 7.25 ppm'deki piki bileşik **5b**'de 7.05 ppm'e taşımıştır. İsatine ait H4, H6 ve H7 protonları bileşik **5a** için sırasıyla 7.68 ppm'de dublet, 7.50 ppm'de dd 6.84 ppm'de dublet pikler olarak görülürken, bileşik **5b** için sırasıyla, 7.67 ppm'de dublet, 7.49 ppm'de dd 6.83 ppm'de dublet pikler olarak görülmüştür (Beauchard vd., 2006). Ketal grubunun hidrolizi öncesi, üre türevi bileşikler olan **3a** ve **3b**'de ve hidroliz sonrası bileşikler olan **5a** ve **5b**'de isatine ait H7 protonlarına bakıldığında, hidroliz öncesi H7 protonun sırasıyla 6.73 ve 6.72 ppm'de dublet pikler olduğu, hidroliz sonrasında 6.84 ve 6.83 ppm'de dublet pikler olduğu görülmüştür. Bu kimyasal kaymalar ketal grubunun elektron salıcı bir grup olarak etki ettiğinin bir katınıtı sayılabilir. Bu durum ketal grubunun hidrolizi sonrası isatine ait NH piklerinin düşük alana kaymasını terar açıklar niteliktedir (Gencer vd., 2014).

Ketal grubunun hidrolizi ile elde edilen, sülfonamid türevlerinden olan bileşik **6a** ve **6b**'nin ^1H -NMR spektrumları incelendiğinde isatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.94 ve 10.93 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü. Sülfonamid grubunun NH piki ise bileşik **6a** için 10.23 ppm'de singlet bir pik, bileşik **6b** için ise 10.16 ppm'de singlet bir pik olarak görüldü

(Galiana-Rosello vd., 2013). Bileşik **6b**'nin sülfonamid grubunun NH pikinin yüksek alana kayması aromatik halkanın para pozisyonundaki metil grubunun elektron salıcı etkisinin bir sonucu olarak yorumlanabilir (Dea-Ayuela vd., 2009). Benzer durum ketal hidrolizi öncesi bileşik **4a** ve **4b**'de de gözlemlenmiştir. İsatine ait H4, H6 ve H7 protonları bileşik **6a** için sırasıyla 7.60 ppm'de dublet, 7.09 ppm'de dublet, 6.79 ppm'de dublet pikler olarak görülürken, bileşik **6b** için sırasıyla, 7.09 ppm'de dublet 7.23 ppm'de dd 6.78 ppm'de dublet pikler olarak görülmüştür. Ketal grubunun hidrolizi öncesi, sülfonamid türevi bileşikler olan **4a** ve **4b**'de ve hidroliz sonrası bileşikler olan **6a** ve **6b**'de isatine ait H7 protonunalarına bakıldığında, hidroliz öncesi H7 protonun her iki bileşikte de 6.65 ppm'de dublet bir pik olduğu, hidroliz sonrasında 6.79 ve 6.78 ppm'de dublet pikler olduğu görülmüştür. Bu kimyasal kaymalar ketal grubunun elektron salıcı bir grup olarak etki ettiğini tekrar katınlılar niteliktedir (Gencer vd., 2014). Bu durum ketal grubunun hidrolizi sonrası isatine ait NH piklerinin bileşik **6a** ve **6b**'de düşük alana kaymasını bir kez daha açıklar niteliktedir. Aromatik halkanın para konumundaki metil grubunun etkisi Hb ve Hd aromatik protonları üzerinde de etkili olarak, metil grubunun kendisine göre orto konumunda bulunan Hb ve Hd protonlarının elektron yoğunluğunu artırarak bileşik **6a** için 7.53 ppm'deki piki bileşik **6b**'de 7.32 ppm'e taşımıştır.

Sonuç bileşiklerinden olan üre türevi **7a**, **7b**, **7c**, **7d** bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde isatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.84 ppm,'de singlet, 10.89 ppm'de singlet, 10.87 ppm'de singlet, 10.94 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü. Bileşik **7b**'nin isatin halkasının üçüncü konumunda bulunan Schiff bazı sübstitüsyonu, *p*-kloro fenil grubuna sahiptir. Klor atomunun elektron çekici özellikte olması isatine ait NH pikinin bileşik **7b**'de **7a**'ya göre daha düşük alanda görülmesinin bir sebebi olarak yorumlanabilir. Benzer şekilde bileşik **7a** ve **7c** kıyaslandığında, bileşik **7a**'da para konumundaki metil grubunun elektron salıcı etkisiyle isatine ait NH pikinin en yüksek alanda gözlenmesinin sebebi olarak yorumlanabilir. Bileşik **7d** naftil grubunun elektron ihtiyacı sonucu isatine ait NH pikinin bu bileşikler arasında en yüksek alanda gözlenmesinin sebebi olabilir. **7a**, **7b**, **7c**, **7d** bileşiklerinin üre protonlarına bakıldığında fenil halkasına komşu durumda olanlar sırasıyla 8.45, 8.48, 8.48, 8.35 ppm'de singlet pikler olarak görülmüşlerdir. Bileşik **7d** haricinde Schiff bazı sübstitüsyonundan etkilenmedikleri söylenebilir. Bileşik **7d**'nin sahip olduğu naftil grubu bu etkinin sorumlusu olabilecek durumdadır. Aynı bileşiklerin isatin halkasına yakın üre protonları sırasıyla 8.32, 8.39, 8.29 ve 8.16 ppm'de singlet pikler olarak

görülmüşlerdir. Bu değerler Schiff bazı süstitüsyonun aromatik halkasının para konumunda taşıdığı elektron salıcı ya da çekici grupların etkisi ile uyum içindedir. Bu durum isatin halkasının üçüncü konumda yer alan Schiff bazı süstitüsyonun, isatinin H5 konumuna elektron aktarabileceğinin ya da çekebileceğinin bir kanıtı olarak sayılabilir. Sonuç bileşiklerinden olan üre türevi **7e**, **7f**, **7g**, **7h** bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde benzer sonuçlar görülmüştür. İsatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.83 ppm’de singlet, 10.85 ppm’de singlet, 10.85 ppm’de singlet, 10.92 ppm’de singlet pikler olduğu görüldü. **7e**, **7f**, **7g**, **7h** bileşiklerinin üre protonlarına bakıldığında *p*-tolil halkasına komşu durumda olanlar sırasıyla 8.34, 8.36, 8.34 ve 8.23 ppm’de singlet pikler olarak görülmüşlerdir. Bileşik **7d** haricinde Schiff bazı süstitüsyonundan etkilenmedikleri tekrar söylenebilir. Bileşik **7d**’nin sahip olduğu naftil grubu bu etkinin yine sorumlusu durumdadır. Bu bileşiklerde fenil halkasının para konumunda bulunan metil grubu fenil halkasına yakın üre protonlarını, para konumunda metil grubundan yoksun olan bileşiklerle kıyasla (**7a**, **7b**, **7c**, **7d**) yüksek alana kaydırmıştır. **7e**, **7f**, **7g**, **7h** bileşiklerinin isatin halkasına yakın üre protonları sırasıyla 8.27, 8.33, 8.21 ve 8.10 ppm’de singlet pikler olarak görülmüşlerdir ve az da olsa *p*-tolil grubunun metil süstitüsyonundan etkilenerek para konumunda metil grubundan yoksun olan bileşiklerle kıyasla (**7a**, **7b**, **7c**, **7d**) yüksek alana gözlenmişlerdir. Ayrıca bu değerler Schiff bazı süstitüsyonun aromatik halkasının para konumunda taşıdığı elektron salıcı ya da çekici grupların etkisi ile tekrar uyum içinde gözlemlenmiştir. Bu durum isatin halkasının üçüncü konumda yer alan Schiff bazı süstitüsyonun, isatinin H5 konumuna elektron aktarabileceğinin ya da çekebileceğinin bir kanıtı olarak tekrarlanmıştır. Bileşik **7a**, **7b**, **7c**, **7d** üre süstitüsyonunda fenil halkası taşımaktadırlar. Yalnızca bileşik **7a** Schiff bazı süstitüsyonunda fenil halkasının para konumunda metil grubuna sahiptir. İlgili metile ait pik 2.34 ppm’de singlet bir pik olarak görülmüştür. Bileşik **7e**, **7f**, **7g**, **7h** üre süstitüsyonunda *p*-tolil grubuna sahiptir. Bileşik **7e** ayrıca Schiff bazı olarak *p*-tolil süstitüsyonuna da sahiptir ilgili bileşiğin metil gruplarına ait pikler sırasıyla 2.23 ve 2.37 ppm’de singlet pikler olarak görülmüştür. Serinin diğer bileşikleri olan **7f**, **7g**, **7h**’de üre süstitüsyonunun *p*-tolil grubunun metil pikleri sırasıyla 2.26, 2.23, 2.19 ppm’de gözlemlenmeye devam ederek metil piklerinin kimyasal kaymalarını pekiştirmiş ve yerlerini kesin olarak söylenebilir duruma getirmiştir.

Bileşik **7a-7d** ve **7e-7h**’nin ¹³C-NMR spektrumlarında karbon piklerinin sinyalleri, şu şekilde gözlenmiştir; 163.84-164.11 (C=O), 152.76-152.95 (C=N), 154.93-156.10 (N-C=O-

N), 146.61-150.45 (=N-C) (**9**, **10**). Bileşik **7a**'nın sahip olduğu Schiff bazı sübstütüsyonun metil grubu 21.16 ppm'de gözlemlendi. Bileşik **7e** hem Schiff bazı sübstütüsyonunda hem de üre sübstütüsyonunda metil grubuna sahiptir. İlgili bileşiğin metil grubuna ait sinyaller 21.17 ve 20.77 ppm'de görüldü. Bileşik **7a** ve **7e** göz önünde tutulduğunda iki farklı metil sinyalinden 21.17 ppm'de gözlenen sinyalin Schiff bazı sübstütüsyonun metil gruba ait olduğu 20.77 ppm'de gözlenen sinyalin ise üre sübstütüsyonun metil grubuna ait olduğu sonucu çıkarıldı. Tutarlı bir şekilde bileşik **7f**, **7g** ve **7h**'de sırasıyla 20.78, 20.78 ve 20.75 ppm'de gözlenen sinyaller, üre sübstütüsyonun metil sinyalin değerlendirilmesinin doğrular nitelikte olduğunun kanıtı sayılabilir. Üre türevleri olan **7a-h** grubu bileşiklerin IR spektrumlarında fonksiyonel gruplar için spesifik bantlar; 3210-3290 aralığında (üre NH grupları), 3140-3180 aralığında (isatine ait NH), 1730-1750 aralığında (laktam C=O), 1620-1630 (üre C=O), (1550-1560 C=N) şeklinde gözlemlendi (Lee vd., 2004; Badawi vd., 2012; Silva vd., 2001; Chinnasamy vd., 2010; Rajareddy vd., 2019).

Sonuç bileşiklerinden olan sülfonamid türevi **8a**, **8b**, **8c**, **8d** bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde isatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.89 ppm,'de singlet, 10.92 ppm'de singlet, 10.91 ppm'de singlet, 10.95 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü (Galiana-Rosello vd., 2013). Bileşik **8b**'nin isatin halkasının üçüncü konumunda bulunan Schiff bazı sübstütüsyonu, *p*-klorofenil grubuna sahiptir. Klor atomunun elektron çekici özellikte olması isatine ait NH pikinin bileşik **8b**'de **8a**'ya göre daha düşük alanda görülmesinin bir sebebi olarak bu bileşik serisinde de yorumlanabilir. Benzer şekilde bileşik **8a** ve **8c** kıyaslandığında, bileşik **8a**'da para konumundaki metil grubunun elektron salıcı etkisiyle isatine ait NH pikinin daha yüksek alanda gözlenmesinin sebebi olarak yorumlanabilir. Bu bileşik serisi için de bileşik **8d** naftil grubunun elektron ihtiyacı sonucu isatine ait NH pikinin bu bileşikler arasında en yüksek alanda gözlenmesinin sebebi olabilir. **8a**, **8b**, **8c**, **8d** bileşiklerinin sülfonamid protonlarına bakıldığında sırasıyla 9.91, 9.94, 9.93, 9.85 ppm'de singlet pikler olarak görülmüşlerdir (Aceves-Luquero vd., 2016). Bu değerler Schiff bazı sübstütüsyonun aromatik halkasının para konumunda taşıdığı elektron salıcı ya da çekici grupların etkisi ile uyum içindedir. Bu durum isatin halkasının üçüncü konumda yer alan Schiff bazı sübstütüsyonun, isatinin H5 konumuna elektron aktarabileceğinin ya da çekebileceğinin bu bileşiklerde de gözlenen bir kanıtı olarak sayılabilir. Sonuç bileşiklerinden olan sülfonamid türevi **8e**, **8f**, **8g**, **8h** bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde benzer sonuçlar görülmüştür. İsatine ait NH piklerinin sırasıyla 10.88 ppm'de

singlet, 10.93 ppm'de singlet, 10.90 ppm'de singlet, 10.94 ppm'de singlet pikler olduğu görüldü. **8e, 8f, 8g, 8h** bileşiklerinin sülfonamid protonlarına bakıldığında sırasıyla 9.84, 9.92, 9.85, 9.80 ppm'de singlet pikler olarak görülmüşlerdir (Aceves-Luquero vd., 2016). Bu değerler isatine ait NH piklerinin üzerinde, Schiff bazı sübstitüsyonun aromatik halkasının para konumunda taşıdığı elektron salıcı ya da çekici grupların etkisi ile tekrar uyum içinde gözlenmiştir. Ayrıca bu değerler isatin halkasının üçüncü konumda yer alan Schiff bazı sübstitüsyonun, isatinin H5 konumuna elektron aktarabileceğinin ya da çekebileceğinin bu bileşiklerde de gözlenen bir kanıtı olarak sayılabilir. Bileşik **8e, 8f, 8g, 8h** sülfonamid sübstitüsyonunda taşıdıkları aromatik halkanın para konumdaki metil grubunun etkisiyle, aromatik halkanın para konumdaki metil grubundan yoksun olan bileşik **8a, 8b, 8c, 8d**'ye kıyasla sülfonamid protonlarının hepsi yüksek alana kaymışlardır. Bileşik **8a, 8b, 8c, 8d** sülfonamid sübstitüsyonunda fenil halkası taşımaktadırlar yalnızca bileşik **8a** Schiff bazı sübstitüsyonunda fenil halkasının para konumunda metil grubuna sahiptir. İlgili metile ait pik bileşik **8a**'da 2.39 ppm'de singlet bir pik olarak görülmüştür. Bileşik **8e, 8f, 8g, 8h** sülfonamid sübstitüsyonunda *p*-tolil grubuna sahiptir. Bileşik **8e** ayrıca Schiff bazı olarak *p*-tolil sübstitüsyonuna da sahiptir ilgili bileşiğin metil gruplarına ait pikler sırasıyla 2.36 ve 2.39 ppm'de singlet pikler olarak görülmüştür. Serinin diğer bileşikler olan **8f, 8g, 8h**'de sülfonamid sübstitüsyonunun *p*-tolil grubunun metil pikleri sırasıyla 2.35, 2.35, 2.29 ppm'de gözlemlenmeye devam ederek metil piklerinin kimyasal kaymalarını pekiştirmiş ve yerlerini kesin olarak söylenebilir duruma getirmiştir.

Bileşik **8a-8d** ve **8e-8h**'nin ^{13}C -NMR spektrumlarında karbon piklerinin sinyalleri, şu şekilde gözlemlendi; 163.09-164.00 (C=O), 154.46-155.84 (C=N), 146.44-150.15 (=N-C), 144.16-144.54 (C-NH-S) (Chinnasamy vd., 2010; Gencer vd, 2014; Alp vd., 2012). Bileşik **8a**'nın sahip olduğu Schiff bazı sübstitüsyonun metil grubu 21.18 ppm'de gözlemlendi. Bileşik **8e** hem Schiff bazı sübstitüsyonunda hemde sülfonamid sübstitüsyonunda metil grubuna sahiptir. İlgili bileşiğin metil gruplarına ait sinyaller 21.46 ve 21.17 ppm'de gözlemlendi. Bileşik **8a** ve **8e** göz önünde tutulduğunda iki farklı metil sinyalinden 21.17 ppm civarında görülen sinyalin Schiff bazı sübstitüsyonun metil gruba ait olduğu 21.46 ppm'de gözlenen sinyalin ise sülfonamid sübstitüsyonun metil grubuna ait olduğu sonucu çıkarıldı. Tutarlı bir şekilde bileşik **8f, 8g** ve **8h**'de sırasıyla 21.46, 21.43 ve 21.39 ppm'de gözlenen sinyaller, sülfonamid sübstitüsyonun metil sinyalin değerlendirilmesinin doğrular nitelikte olduğunun kanıtı sayılabilir. Sülfonamid türevleri olan **8a-h** grubu bileşiklerin IR spektrumlarında

fonksiyonel gruplar için spesifik bantlar; 3200-3380 aralığında (sülfonamid NH grupları), 3100-3190 aralığında (isatine ait NH), 1710-1740 aralığında (laktam C=O), (1620-1630 C=N) şeklinde gözlemlendi (Silva vd., 2001; Chinnasamy vd., 2010; Rajareddy vd., 2019; Asker vd., 2017).

5.2. SİTOTOKSİK AKTİVİTE SONUÇLARI

Sentezlenen sonuç bileşikleri (**7a-h**, **8a-h**), antikanser aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla dört farklı kanser hücre hattında (PC-3, HepG2, SH-SY5Y ve A549) ve NIH/3T3 sağlıklı hücre hattında in vitro olarak MTT testi metodu kullanılarak sitotoksikite testine tabi tutuldular. PC-3, prostat kanserine karşı yeni ajanlar bulmak için kullanılan insan prostat kanseri hücre hattıdır. HepG2 ve SH-SY5Y kanser hücre hatları ise sırasıyla insan karaciğeri ve nöroblastoma karşı yeni bileşikler araştırmak için kullanılırlar. A549 hücreleri, akciğer kanserine karşı yeni ajanlar bulmak için model olarak kullanılırlar. Test edilen sonuç bileşiklerinin sitotoksikite etkinlikleri, hücre canlılığının %50 azalmasına neden olan konsantrasyon olarak ifade edilen IC₅₀ değerleri ile ifade edildi. Aktif bileşiklerin test sonuçları ve IC₅₀ değerleri Tablo 5.1.'de verilmektedir.

Tablo 5.1. Aktif bileşiklerinin kanserli ve sağlıklı hücrelerde MTT testi kullanılarak elde edilen IC₅₀ (uM) değerleri.

Bileşikler	PC-3		HepG2		SH-SY5Y		A549		NIH/3T3
	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}	SI ^{b)}	IC ₅₀ ^{a)}
7a	155 ± 13.22	-	31.97 ± 4.32	-	nd (>1000)	-	401.7 ± 28.96	-	nd (>1000)
7b	149 ± 11.94	-	42.13 ± 4.04	-	182.77 ± 12.18	-	338.5 ± 22.64	-	nd (>1000)
7c	113.98 ± 10.92	-	31.5 ± 3.82	-	nd (>1000)	-	411.9 ± 15.07	-	nd (>1000)
7d	151.89 ± 12.7	2.13	47.98 ± 5.18	6.76	115.97 ± 9.92	2.79	nd (>1000)	-	324.5 ± 23.05
7h	102.37 ± 9.71	2.85	32.59 ± 2.93	8.94	174.59 ± 13.72	1.67	929.24 ± 27.56	0.31	291.5 ± 16.34
8a	277.5 ± 25.33	1.37	43.44 ± 3.14	8.77	64 ± 6.78	5.95	657.05 ± 43.15	0.58	381 ± 32.51
8f	201.4 ± 18.12	1.6	37.81 ± 5.05	8.57	122.79 ± 17.23	2.64	309.8 ± 20.91	1.04	324.2 ± 20.51
doksorubisin	25.52 ± 4.8		51.15 ± 9.9		51.11 ± 5.38		13.53 ± 2.5		53.8 ± 6.8

a) IC₅₀ = in vitro test edilmiş hücelere karşı %50 sitotoksik konsantrasyon. Veriler, üç ayrı deneyin ortalamasıdır ve ±SD değeri olarak sunulur.

b) SI = Seçicilik indeksi-normal hücreye göre IC₅₀ değeri.

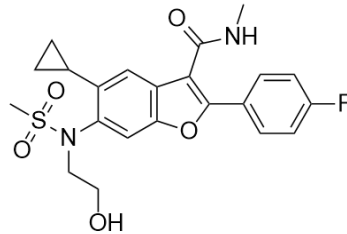
nd = belirlenmedi. Bu nedenle bazı bileşikler için SI indeksi hesaplanamamıştır.

Sitotoksikite sonuçları, teste tabi tulan sonuç bileşiklerinden **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** bileşiklerinin NIH/3T3 hücrelerinde en zayıf sitotoksik etkiyi sergilerken, sırasıyla **31.97**, **42.13**, **31.5**, **47.98**, **32.59**, **43.44**, **37.81** ortalama IC₅₀ değerleriyle HepG2 hücrelerine karşı hücrel proliferasyon aktivitesinin potansiyel inhibisyonunu indüklediğini ortaya koydu. İncelenen hücre hatlarından HepG2 hücrelerinin **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** bileşiklerinin sitotoksik aktivitesine daha duyarlı olduğu gözlemlendi. Bu bileşiklerin HepG2 hücre hatlarına karşı inhibisyon değerleri standart bir ilaç olan doksorubisinin 51.2 µM olan inhibisyon değerinden daha düşük bulunarak, HepG2 hücre hatlarına karşı inhibisyon potansiyelleri yüksek bulunmuştur. Test edilen sonuç bileşiklerinin diğer hücre dizilerindeki sitotoksik aktiviteleri, doksorubisine kıyasla düşük bulundu. **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** bileşiklerinin seçicilik indeksleri sırasıyla **6.76**, **8.94**, **8.77** ve **8.57** olarak bulundu. Bu veriler, ilgili bileşiklerin spesifik olarak HepG2'yi etkilediğini ve tedavi için daha etkili ve güvenli olabileceklerini göstermektedir. Üre grubu içeren bileşiklerin HepG2 kanser hücre hattı üzerinde daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. **7a**, **7b**, **7c**, **7d** bileşiklerinin üre grubunda

fenil bulunurken **7h** bileşiğinde *p*-metil fenil bulunmaktadır. Aynı bileşiklerin üçüncü konumundaki Schiff bazı gruplarında sırasıyla *p*-metil fenil, *p*-kloro fenil, fenil ve naftil bulunmaktadır. Yüksek aktivite gösterdiği bilinen Sülfonamid türevi olan **8a** ve **8f** bileşiklerinin sülfonamid grubunda sırasıyla fenil ve *p*-metil fenil bulunurken Schiff bazı gruplarında sırasıyla *p*-metil fenil ve *p*-kloro fenil bulunmaktadır. Bu bileşikler, sitotoksik aktivite gösterdiği hastalığa karşı yeni türevler sentezlemek için ilham verici durumdadır. Bu nedenle moleküler doking ve ADME çalışmaları ile bu bileşiklerin yapı-aktivite ilişkileri de değerlendirilmiştir.

5.3. MOLEKÜLER DOKİNG ÇALIŞMALARI

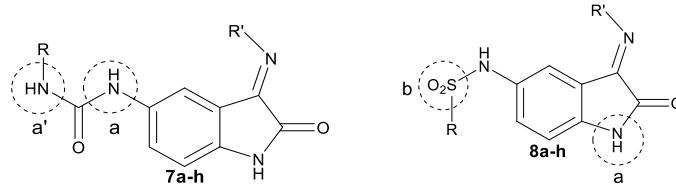
HCV, siroz ve hepatosit karsinomu dahil olmak üzere ciddi karaciğer hastalıklarına neden olan viral bir enfeksiyondur. HCV'nin NS5B polimerazı (PDB ID: 3FQK), dört allosterik bağlanma bölgesini barındıran ve HCV enfeksiyonuna müdahale edebilen en çok çalışılan hedeftir (Khalid vd., 2020). Test ettiğimiz bileşiklere çok benzeyen bir yapı olan 5-siklopropil-2-(4-florofenil)-6-[(2-hidroksietil)(metilsülfonil)amino]-N-metil-1-benzofuran-3-karboksamid bu proteine ligand olarak gömülüdür. Bu proteini indol izosteri sayılabilecek bu yapıyı içermesi nedeniyle seçtik. Bu ligand reseptör etkileşiminde karşılaştırma maddesi olarak kullanıldı.



Şekil 5.1: 5-siklopropil-2-(4-florofenil)-6-[(2-hidroksietil)(metilsülfonil)amino]-N-metil-1-benzofuran-3 karboksamid.

Her bir sonuç bileşiğinin en iyi bağlanma afinitesi ve reseptör-ligand etkileşimi değerlendirildi. HCV reseptörünün NS5B polimeraz reseptörünün aktif cebindeki yüksek aktiviteye sahip bileşiklerin etkileşimlerinin verileri Tablo 5.2'de gösterilmiştir.

Tablo 5.2: Aktif bileşiklerde seçilen konformasyonlarda serbest bağlanma enerjileri, hidrojen bağı uzaklıkları ve RMSD değerleri.

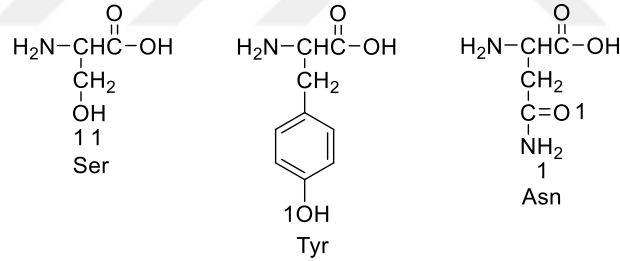


Bileşik	R	R'	Bağlanma Enerjisi (kcal mol ⁻¹) ^a	RMSD Değeri ^b	Hidrojen Bağı (Uzaklık Å) ^c
7a	Ph	Ph(p-CH ₃)	-8.39	0.36	
7b	Ph	Ph(p-Cl)	-7.78	0.19	
7c	Ph	Ph	-11.04	0.13	a ile SER365 O-1 (2.104) a' ile SER365 O-1 (2.128)
7d	Ph	Naftil	-10.01	0.36	
7h	Ph(p-CH ₃)	Naftil	-8.96	0.31	
8a	Ph	Ph(p-CH ₃)	-10.18	0.33	b ile SER368 H-1 (1.768)
8f	Ph(p-CH ₃)	Ph(p-Cl)	-10.13	0.20	b ile SER365 H-1 (2.177)

^a En düşük bağlanma enerji değerleri, reseptör aktif bölgesi ile daha iyi etkileşim gösterir.

^b En düşük RMSD değerleri, bileşiklerin aktif bölgeye yakınlığını gösterir.

^c Amino asitlerin hidrojen bağlarının mesafesi.



Ligandın hedefteki en güçlü bağlanma kabiliyetini gösteren en düşük bağlanma enerjisi ve RMSD değerine ve en yüksek hidrojen bağı kurma kapasitesine sahip olan konformasyonlar, doking sonuçları arasından seçilmiştir. Bileşiklerin çoğunluğunun -7.78 ve -11.86 kcal/mol aralığında HCV'nin NS5B polimerazı ile güçlü bağlanma kabiliyeti gösterdikleri görüldü. Bu bağlamda bileşik 7c, en küçük RMSD (0.13) değeri ile en düşük bağlanma enerjisine (-11.04 kcal/mol) sahip bileşik olmuştur. Diğer aktif bileşiklerden olan 8a ve 8f de reseptör aktif bölgesi ile iyi bağlanma özellikleri (düşük bağlanma enerjisi özellikleri ve hidrojen bağı yetenekleri ile) gösterdi. Bileşiklerin etkinliğini değerlendirmek için bileşiklerin en düşük bağlanma enerjileri, RMSD değerleri ve en yüksek hidrojen bağlama yetenekleri değerlendirildiğinde etkileşimlerin çoğu, üre türevleri (7a-h) için aktif bölge amino asitleri

SER365 (%7.50-10.00), MET414 (%6.25) ile olduğu görülürken, sülfonamid türevleri (**8a-h**) için SER365, SER368, ASN316, LEU204, ARG200 (%20.00) TYR415, ASN316 (%18.75) ile olduğu görüldü Şekil 4.93. En aktif bileşik olan **7c**'nin etkileşimi Şekil 4.94'de gösterilmiştir. Aktif bölge amino asidi SER365 ile 2.104 Å ve 2.128 Å uzunlukta iki farklı hidrojen bağı yaparak g   l  bir etkileşim kurmuştur. **7c**'nin yaptığı hidrojen bağlarının, bileşiğin üre grubunun NH hidrojenleri ile SER365'in 1 numaralı hidroksil grubunun oksijenleri arasında oluştuğu g r lm ştir. Docking sonuçlarına göre, tüm bileşiklerin reseptör aktif bölgesinde aromatik halkalar sayesinde hidrofobik etkileşimler gösterdiği g r lm ştir.

5.4. ADME TAHMİN  ALIşMALARI

Metabolizma tahmininin sonuçları, esas olarak üç CYP izoformunun (2C19, 3A4 ve 3A1) aracılık ettiği isatin Schiff bazlarının üre ve sülfonamid türevlerinin CYP metabolizmasını ortaya çıkardı. CYP'lerin aracılık ettiği en sık rastlanmış metabolik reaksiyonlar aromatik hidroksilasyon ve benzilik hidroksilasyon olarak bulundu Şekil 4.95. Ayrıca sonuçlar, bileşiklerin çoğunun CYP3A4 enzimi tarafından metabolize edildiğini ve ana metabolik reaksiyonun aromatik hidroksilasyon olduğunu göstermektedir. Aktif bileşiklerin moleküler ağırlığı, log P, PYA, KBB'den geçiş, GI absorpsiyon özellikleri ve CYP450 tipi inhibisyon değer Tablo 5.3.'te sunuldu. Tüm bileşiklerin, lipid bariyerini geçmek için makul değerlerde lipofilit ye (<5) sahip olduğu görüldü. Ayrıca bileşiklerin tümünün Lipinsk'nin beş kuralına uyduğu ve ilaç özellikleri taşıdığı görüldü.

Tablo 5.3: Aktif Bileşiklerin ADME Tahmin Değerleri.

Bileşik	MA (g/mol) ^a	LogP ^b	PYA ^c	KBB ^d	GE Abs. ^e	CYP P450 İnhibisyon Türü ^f	Lipinski Uy. ^g
7a	370.40	3.25	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7b	390.82	3.47	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7c	356.38	2.92	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7d	406.44	3.82	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
7h	420.46	4.15	82.59 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8a	391.44	2.97	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal
8f	425.89	3.54	96.01 Å ²	Hayır	Yüksek	CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4	Evet; 0 ihlal

a Molekül ağırlığı (önerilen değer <500)

b bileşiğin n-oktanol ve su arasındaki dağılıma katsayısının logaritması (önerilen değer <5)

c Polar yüzey alanı (önerilen değer ≤140Å²)

d Bileşiğin Kan Beyin Bariyerini geçip geçmediğini gösterir

e Gastrointestinal Emilim Derecesi

f CYP450 alt tiplerinin inhibisyonunu temsil eder

g Bileşiğin Lipinski'nin Beşli Kuralına uyup uymadığını gösterir.

Özetle, **7a**, **7b**, **7c**, **7d**, **7h**, **8a** ve **8f** bileşiklerinin aktivite potansiyelleri, HepG2 hücre hattında 51.2 uM'lik inhibisyon değerine sahip doksorubisin daha yüksektir. Bu nedenle, bu bileşikler yeni aktif türevlerin bulunması için başlangıç noktası olarak kullanılabilirler. Ayrıca sonuçlar, üre türevlerinin sülfonamid türevlerinden aktif olduğunu gösterdi. Aktif bileşiklerin yapıları incelendiğinde fenil halkası üzerindeki sübstitüsyonların, aktivite için önemli olmadığı sonucuna varıldı. Fenil halkası üzerindeki sübstitüsyonlar, elektron çeken veya Cl, metil gibi elektron veren sübstitüentler olabilirler veya yalnızca fenil halkası da olabilir. Aktivite testleri bileşiklerin *E/Z* karışımı ile yapıldı ve sonuçlar bu şekilde belirlendi. Doking sonuçları ile biyolojik olarak aktif bileşiklerin örtüştüğü görüldü. En iyi ligand-reseptör bağlanma etkileşimine sahip bileşiğin in vitro testlerde en aktif bileşik olduğu görüldü. En aktif bileşik **7c**, en düşük bağlanma enerjisi, en küçük RMSD değeri ve hidrojen bağı kapasitesi ile diğer aktif bileşikler arasında en iyi etkileşimi gösteren bileşik oldu. Sonuçlarda, üre türevlerinin sülfonamid türevlerine göre aktif bölgeye daha sıkı

bağlandığı görüldü. Genel olarak, docking ve aktivite değerleri paralel sonuçlar verdi. Bileşiklerin ilaç özellikleri ADME hesaplamaları ile belirlendi. Sonuçlar, bileşiklerin iyi absorpsiyon ve metabolizma özelliklerine sahip olduğunu gösterdi. Bileşiklerin aromatik hidroksilasyonu, ilaçların en yaygın metabolize edici enzimi olan CYP3A4 enzimi ile gerçekleştiği görüldü. Tüm bu sonuçlar, tasarlanan bileşiklerin in vitro testlerdeki aktivitelerinin yanı sıra ilaç benzeri özelliklere de sahip olduğunu gösterdi.



REFERANSLAR

- Aceves-Luquero, C., Galiana-Roselló, C., Ramis, G., Villalonga-Planells, R., García-España, E., Fernández de Mattos, S., Peláez, R., Llinares, J. M., González-Rosende, M. E., & Villalonga, P. (2016). N-(2-methyl-indol-1H-5-yl)-1-naphthalenesulfonamide: A novel reversible antimitotic agent inhibiting cancer cell motility. *Biochemical pharmacology*, 115, 28–42. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.06.016>
- Acquaviva, J., Wong, R., & Charest, A. (2009). The multifaceted roles of the receptor tyrosine kinase ROS in development and cancer. *Biochimica et biophysica acta*, 1795(1), 37–52. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2008.07.006>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2008). *The Molecular Biology of The Cell*. In J. Boyle 5th Edition. New York, NY, Garland Science.
- Ali, I., Mukhtar, S. D., Hsieh, M. F., Alothmand, Z. A, Alwarthand, A. (2018). Facile synthesis of indole heterocyclic compounds based micellar nano anti-cancer drugs. *RSC Advances*, 8(66), 37905–37914
- Alp, C., Özsoy, Ş., Alp, N. A., Erdem, D., Gültekin, M. S., Küfrevioğlu, Ö. İ., Şentürk, M., & Supuran, C. T. (2012). Sulfapyridine-like benzenesulfonamide derivatives as inhibitors of carbonic anhydrase isoenzymes I, II and VI. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 27(6), 818–824. <https://doi.org/10.3109/14756366.2011.617745>
- Ardini, E., Menichincheri, M., Banfi, P., Bosotti, R., De Ponti, C., Pulci, R., Ballinari, D., Ciomei, M., Texido, G., Degrassi, A., Avanzi, N., Amboldi, N., Saccardo, M. B., Casero, D., Orsini, P., Bandiera, T., Mologni, L., Anderson, D., Wei, G., Harris, J., ... Galvani, A. (2016). Entrectinib, a Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor with Activity in Multiple Molecularly Defined Cancer Indications. *Molecular cancer therapeutics*, 15(4), 628–639. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0758>
- Arora, A., & Scholar, E. M. (2005). Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 315(3), 971–979. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.084145>
- Asker F.W., Mahamad, Z.Z., Eliwei, A.G., Nief O.A. (2017) Synthesis and characterization of some sulfonamide dervatives. *Int. J. App. Chem*, 13(2), 169-177
- Azam, M., Latek, R. R., & Daley, G. Q. (2003). Mechanisms of autoinhibition and STI-571/imatinib resistance revealed by mutagenesis of BCR-Abl. *Cell*, 112(6), 831–843. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00190-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00190-9)
- Badawi, H. M., & Förner, W. (2012). Analysis of the infrared and Raman spectra of the symmetrically substituted 1,3-diphenylurea and 1,3-diphenylacetone (dibenzyl ketone). *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 95, 435–441. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.04.014>

- Bagnato, G., Leopizzi, M., Urciuoli, E., & Peruzzi, B. (2020). Nuclear Functions of the Tyrosine Kinase Src. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2675. <https://doi.org/10.3390/ijms21082675>
- Barakat, A., Islam, M. S., Ghawas, H. M., Al-Majid, A. M., El-Senduny, F. F., Badria, F. A., Elshaiere, Y. A. M. M., Ghabbourfg, H. A. (2018). Substituted spirooxindole derivatives as potent anticancer agents through inhibition of phosphodiesterase 1. *RSC Advances*, 8(26), 14335-14346
- Beauchard, A., Ferandin, Y., Frère, S., Lozach, O., Blairvacq, M., Meijer, L., Thiéry, V., & Besson, T. (2006). Synthesis of novel 5-substituted indirubins as protein kinases inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(18), 6434–6443. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.05.036>
- Belsches-Jablonski, A.P., Demory, M.L., Parsons, J.T., Parsons, S.J. (2005). The src pathway as a therapeutic strategy. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 2 (4), 313-321.
- Blackadar C. B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World journal of clinical oncology*, 7(1), 54–86. <https://doi.org/10.5306/wjco.v7.i1.54>
- Blencke, S., Zech, B., Engkvist, O., Greff, Z., Orfi, L., Horváth, Z., Kéri, G., Ullrich, A., & Daub, H. (2004). Characterization of a conserved structural determinant controlling protein kinase sensitivity to selective inhibitors. *Chemistry & biology*, 11(5), 691–701. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.02.029>
- Buolamwini, J.K. (1999). Novel anticancer drug discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 3(4), 500-509.
- Cao, X., You, Q. D., Li, Z. Y., Wang, X. J., Lu, X. Y., Liu, X. R., Xu, D., & Liu, B. (2008). Recent progress of SRC family kinase inhibitors as anticancer agents. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 8(10), 1053–1063. <https://doi.org/10.2174/138955708785740634>
- Carmi, C., Mor, M., Petronini, P. G., & Alfieri, R. R. (2012). Clinical perspectives for irreversible tyrosine kinase inhibitors in cancer. *Biochemical pharmacology*, 84(11), 1388–1399. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.031>
- Chen, Y-F., Fu, L-W. (2011). Mechanisms of acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 1(4), 197-207. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2011.10.007>
- Chinnasamy, R. P., Sundararajan, R., & Govindaraj, S. (2010). Synthesis, characterization, and analgesic activity of novel schiff base of isatin derivatives. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 1(3), 342–347. <https://doi.org/10.4103/0110-5558.72428>
- Chong, Y. P., Ia, K. K., Mulhern, T. D., & Cheng, H. C. (2005). Endogenous and synthetic inhibitors of the Src-family protein tyrosine kinases. *Biochimica et biophysica acta*, 1754(1-2), 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.07.027>

- Clem, B. F., O'Neal, J., Klarer, A. C., Telang, S., & Chesney, J. (2016). Clinical development of cancer therapeutics that target metabolism. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*, 109(6), 367–372. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcv181>
- Cowan-Jacob, S. W., Möbitz, H., & Fabbro, D. (2009). Structural biology contributions to tyrosine kinase drug discovery. *Current opinion in cell biology*, 21(2), 280–287. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.01.012>
- Dea-Ayuela, M. A., Castillo, E., Gonzalez-Alvarez, M., Vega, C., Rolón, M., Bolás-Fernández, F., Borrás, J., & González-Rosende, M. E. (2009). In vivo and in vitro anti-leishmanial activities of 4-nitro-N-pyrimidin- and N-pyrazin-2-ylbenzenesulfonamides, and N2-(4-nitrophenyl)-N1-propylglycinamide. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(21), 7449–7456. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.09.030>
- Dhanabal, M., Jeffers, M., & Larochelle, W. J. (2005). Anti-angiogenic therapy as a cancer treatment paradigm. Current medicinal chemistry. *Anti-cancer agents*, 5(2), 115–130. <https://doi.org/10.2174/1568011053174882>
- Dietrich, J., Hulme, C., & Hurley, L. H. (2010). The design, synthesis, and evaluation of 8 hybrid DFG-out allosteric kinase inhibitors: a structural analysis of the binding interactions of Gleevec, Nexavar, and BIRB-796. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18(15), 5738–5748. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.05.063>
- Doğan, A., & Güç, D. (2004). Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. *Acta Medica*, 35(1), 34-42.
- Eldehna, W. M., Abo-Ashour, M. F., Nocentini, A., Gratteri, P., Eissa, I. H., Fares, M., Ismael, O. E., Ghabbour, H. A., Elaasser, M. M., Abdel-Aziz, H. A., & Supuran, C. T. (2017). Novel 4/3-((4-oxo-5-(2-oxoindolin-3-ylidene)thiazolidin-2-ylidene)amino) benzenesulfonamides: Synthesis, carbonic anhydrase inhibitory activity, anticancer activity and molecular modelling studies. *European journal of medicinal chemistry*, 139, 250–262. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.073>
- Erdem, Ş. (2009). Böbrek hücreli karsinomlarda p53 ve bcl-2 immün pozitifliğin tümör ile ilişkili prognostik faktörlerle karşılaştırılması (Uzmanlık tezi). Haseki Eğitim ve araştırma Hst.Patoloji Kli. İstanbul)31/03/2009
- Fitzmaurice, C., Dicker, D., Pain, A., Hamavid, H., Moradi-Lakeh, M., MacIntyre, M. F., Allen, C., Hansen, G., Woodbrook, R., Wolfe, C., Hamadeh, R. R., Moore, A., Werdecker, A., Gessner, B. D., Te Ao, B., McMahon, B., Karimkhani, C., Yu, C., Cooke, G. S., Naghavi, M. (2015). The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA oncology*, 1(4), 505–527. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0735>
- Frame M. C. (2002). Src in cancer: deregulation and consequences for cell behaviour. *Biochimica et biophysica acta*, 1602(2), 114–130. [https://doi.org/10.1016/s0304-419x\(02\)00040-9](https://doi.org/10.1016/s0304-419x(02)00040-9)
- Frame M. C. (2004). Newest findings on the oldest oncogene; how activated src does it. *Journal of cell science*, 117(Pt 7), 989–998. <https://doi.org/10.1242/jcs.01111>

- Gabrielli, A., Svegliati, S., Moroncini, G., Luchetti, M., Tonnini, C., & Avvedimento, E. V. (2007). Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor: a link to fibrosis in scleroderma and a pathway for novel therapeutic targets. *Autoimmunity reviews*, 7(2), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.02.020>
- Galiana-Rosello, C., Bilbao-Ramos, P., Dea-Ayuela, M. A., Rolón, M., Vega, C., Bolás-Fernández, F., García-España, E., Alfonso, J., Coronel, C., & González-Rosende, M. E. (2013). In vitro and in vivo antileishmanial and trypanocidal studies of new N-benzene- and N-naphthalenesulfonamide derivatives. *Journal of medicinal chemistry*, 56(22), 8984–8998. <https://doi.org/10.1021/jm4006127>
- Gassman, P. G., Cue, B. W., Luh, T.-Y. (1977). A General method for the synthesis of isatins. *J. Org. Chem.*, 42(8), 1344–1348. <https://doi.org/10.1021/jo00428a016>
- Gencer, N., Sonmez, F., Demir, D., Arslan, O., & Kucukislamoglu, M. (2014). Synthesis, structure-activity relationships and biological activity of new isatin derivatives as tyrosinase inhibitors. *Current topics in medicinal chemistry*, 14(12), 1450–1462. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140530104344>
- Gridelli, C., Rossi, A., Maione, P. (2006). New antiangiogenic agents and non-small cell lung cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*, 60(1), 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.01.008>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Henricks, L. M., Schellens, J. H., Huitema, A. D., & Beijnen, J. H. (2015). The use of combinations of monoclonal antibodies in clinical oncology. *Cancer treatment reviews*, 41(10), 859–867. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.10.008>
- Hochmair, M. J., Morabito, A., Hao, D., Yang, C. T., Soo, R. A., Yang, J. C., Gucalp, R., Halmos, B., Wang, L., Märten, A., & Cufer, T. (2019). Sequential afatinib and osimertinib in patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: updated analysis of the observational GioTag study. *Future oncology (London, England)*, 15(25), 2905–2914. <https://doi.org/10.2217/fon-2019-0346>
- Hong, S., Fang, W., Liang, W., Yan, Y., Zhou, T., Qin, T., Wu, X., Ma, Y., Zhao, Y., Yang, Y., Hu, Z., Xue, C., Hou, X., Chen, Y., Huang, Y., Zhao, H., & Zhang, L. (2014). Risk of treatment-related deaths with vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: a meta-analysis of 41 randomized controlled trials. *OncoTargets and therapy*, 7, 1851–1867. <https://doi.org/10.2147/OTT.S68386> (Retraction published Onco Targets Ther. 2016 Oct 20;9:6377)
- Hu, G., Place, A. T., & Minshall, R. D. (2008). Regulation of endothelial permeability by Src kinase signaling: vascular leakage versus transcellular transport of drugs and macromolecules. *Chemico-biological interactions*, 171(2), 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.08.006>

- Hubbard, S. R., & Miller, W. T. (2007). Receptor tyrosine kinases: mechanisms of activation and signaling. *Current opinion in cell biology*, 19(2), 117–123.
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2007.02.010>
- Ingle E. (2008). Src family kinases: regulation of their activities, levels and identification of new pathways. *Biochimica et biophysica acta*, 1784(1), 56–65.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.08.012>
- Ischenko, I. A. (2007). Effect of src kinase inhibition on metastasis and tumor angiogenesis in human pancreatic cancer. (Doktora tezi) Erişim adresi: https://edoc.ub.uni-muenchen.de/6483/1/Ischenko_Ivan.pdf
- Islam, M. S., Ghawas, H. M., El-Senduny, F. F., Al-Majid, A. M., Elshaier, Y., Badria, F. A., & Barakat, A. (2019). Synthesis of new thiazolo-pyrrolidine-(spirooxindole) tethered to 3-acylindole as anticancer agents. *Bioorganic chemistry*, 82, 423–430.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.036>
- Janne, P.A. (2021). Osimertinib and Gefitinib in EGFR Inhibitor naïve Advanced EGFR Mutant Lung Cancer. Erişim: 08.08.2021
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03122717>
- Jo, D. H., Kim, J. H., & Kim, J. H. (2019). Targeting tyrosine kinases for treatment of ocular tumors. *Archives of pharmacal research*, 42(4), 305–318.
<https://doi.org/10.1007/s12272-018-1094-3>
- Kapadia, G. J., Shukla, Y. N., Chowdhury, B. K., Basak, S. P., Fales, H. M., Sokoloski, E. A. (1977). Phenylpentylisatins: a novel class of alkaloids from *Melochia tomentosa*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 15, 535-536.
[doi:10.1039/c39770000535](https://doi.org/10.1039/c39770000535)
- Karaman, E. F., & Ozden, S. (2019). Alterations in global DNA methylation and metabolism-related genes caused by zearalenone in MCF7 and MCF10F cells. *Mycotoxin research*, 35(3), 309–320. <https://doi.org/10.1007/s12550-019-00358-8>
- Khalid, H., Landry, K. B., Ijaz, B., Ashfaq, U. A., Ahmed, M., Kanwal, A., Froeyen, M., & Mirza, M. U. (2020). Discovery of novel Hepatitis C virus inhibitor targeting multiple allosteric sites of NS5B polymerase. *Infection, genetics and evolution*, 84, 104371.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104371>
- Kılıç Kurt, Z. (2014). Oksindol Türevi Bazı Yeni Bileşiklerin Sentezleri ve Anti-Kanserojen Aktivitelerinin Araştırılması. (Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara). Erişim adresi: <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/74522>
- Kılıç, Z. (2008). İndol türevi bazı yeni bileşiklerin sentezleri ve anti-kanserojen etkilerinin araştırılması. (Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara). Erişim adresi: <https://dspace.ankara.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12575/32371/tez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Kim, A., Balis, F. M., & Widemann, B. C. (2009). Sorafenib and sunitinib. *The oncologist*, 14(8), 800–805. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0088>
- Konukoğlu, D, Turhan, M. (2005). Anjiyogenezin Temel Moleküler Mekanizmaları Ve Tümör Anjiyogenezini. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 36(1), 42-48
- Korfee, S., Gauler, T., Hepp, R., Pöttgen, C., & Eberhardt, W. (2004). New targeted treatments in lung cancer--overview of clinical trials. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 45 Suppl 2, S199–S208. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2004.07.974>
- Köksoy, A.A. (2002). Damar düz kası proliferasyonunda sinyal iletimi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 55(4), 297-306.
- Krause, D.S., Van Etten, R.A. (2005). Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *The New England Journal of Medicine*, 353 (2), 172-187.
- Kumar, A., Ahmad, I., Chhikara, B. S., Tiwari, R., Mandal, D., & Parang, K. (2011). Synthesis of 3-phenylpyrazolopyrimidine-1,2,3-triazole conjugates and evaluation of their Src kinase inhibitory and anticancer activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(5), 1342–1346. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.01.047>
- Kung H. J. (2011). Targeting tyrosine kinases and autophagy in prostate cancer. *Hormones & cancer*, 2(1), 38–46. <https://doi.org/10.1007/s12672-010-0053-3>
- Leach, C. R., Bellizzi, K. M., Hurria, A., & Reeve, B. B. (2016). Is it my cancer or am i just getting older? Impact of cancer on age-related health conditions of older cancer survivors. *Cancer*, 122(12), 1946–1953. <https://doi.org/10.1002/cncr.29914>
- Lee, S.-H., Matsushita, H., Clapham, B., & Janda, K. D. (2004). The direct conversion of carbamates to ureas using aluminum amides. *Tetrahedron*, 60(15), 3439-3443. [doi:10.1016/j.tet.2004.02.034](https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.02.034)
- Li, P., Tan, Y., Liu, G., Liu, Y., Liu, J., Yin, Y., & Zhao, G. (2014). Synthesis and biological evaluation of novel indoline-2,3-dione derivatives as antitumor agents. *Drug discoveries & therapeutics*, 8(3), 110–116. <https://doi.org/10.5582/ddt.2014.01012>
- Lieu, C., & Kopetz, S. (2010). The SRC family of protein tyrosine kinases: a new and promising target for colorectal cancer therapy. *Clinical colorectal cancer*, 9(2), 89–94. <https://doi.org/10.3816/CCC.2010.n.012>
- Liu, Y., & Gray, N. S. (2006). Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nature chemical biology*, 2(7), 358–364. <https://doi.org/10.1038/nchembio799>
- Lu, X. L., Liu, X. Y., Cao, X., Jiao, B. H. (2012). Novel patented SRC kinase inhibitor. *Current medicinal chemistry*, 19(12), 1821–1829. <https://doi.org/10.2174/092986712800099802>
- Madhusudan, S., & Ganesan, T.S. (2004). Tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy. *Clinical Biochemistry*, 37(7), 618-635.

- Magiatis, P., Polychronopoulos, P., Skaltsounis, A. L., Lozach, O., Meijer, L., Miller, D. B., & O'Callaghan, J. P. (2010). Indirubins deplete striatal monoamines in the Intact and MPTP-treated mouse brain and block kainate-induced striatal astrogliosis. *Neurotoxicology and teratology*, 32(2), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2009.12.005>
- Manley, P. W., Cowan-Jacob, S. W., & Mestan, J. (2005). Advances in the structural biology, design and clinical development of Bcr-Abl kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukaemia. *Biochimica et biophysica acta*, 1754(1-2), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.07.040>
- Markowitz, J. N., & Fancher, K.M. (2018). Cabozantinib: A Multitargeted Oral Tyrosine Kinase Inhibitor. *Pharmacotherapy*, 38(3), 357-369
- Martin G. S. (2001). The hunting of the Src. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 2(6), 467–475. <https://doi.org/10.1038/35073094>
- Mazitschek, R., & Giannis, A. (2004). Inhibitors of angiogenesis and cancer-related receptor tyrosine kinases. *Current opinion in chemical biology*, 8(4), 432–441. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.06.009>
- Morgillo, F., Della Corte, C. M., Fasano, M., & Ciardiello, F. (2016). Mechanisms of resistance to EGFR-targeted drugs: lung cancer. *ESMO open*, 1(3), e000060. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2016-000060>
- Mosmann T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Nagarajan, G., Balasubramaniam, V., Manjunath, K. S., Krishna, E. R., Reddy, P.K., Reddy, E. K., Giriya, K. (2008). Synthesis and in vitro cytotoxic activity of isatin derivatives. *Asian Journal of Chemistry*, 20(3), 1665-1669.
- Nagarsenkar, A., Guntuku, L., Guggilapu, S. D., K, D. B., Gannaju, S., Naidu, V., & Bathini, N. B. (2016). Synthesis and apoptosis inducing studies of triazole linked 3-benzylidene isatin derivatives. *European journal of medicinal chemistry*, 124, 782–793. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.09.009>
- Nam, S., Kim, D., Cheng, J. Q., Zhang, S., Lee, J. H., Buettner, R., Mirosevich, J., Lee, F. Y., & Jove, R. (2005). Action of the Src family kinase inhibitor, dasatinib (BMS-354825), on human prostate cancer cells. *Cancer research*, 65(20), 9185–9189. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-1731>
- Norman, R. A., Toader, D., & Ferguson, A. D. (2012). Structural approaches to obtain kinase selectivity. *Trends in pharmacological sciences*, 33(5), 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.03.005>
- Ölgen, S., & Şentürk, A. M. (2021) Tirozin Kinaz İnhibitörü Bileşiklerin Tasarımı ve Antikanser Etki Mekanizmaları. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 46(11), 159-178

- Paccez, J. D., Vogelsang, M., Parker, M. I., & Zerbini, L. F. (2014). The receptor tyrosine kinase Axl in cancer: biological functions and therapeutic implications. *International journal of cancer*, 134(5), 1024–1033. <https://doi.org/10.1002/ijc.28246>
- Pacenta, H. L., & Macy, M. E. (2018). Entrectinib and other ALK/TRK inhibitors for the treatment of neuroblastoma. *Drug design, development and therapy*, 12, 3549–3561. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S147384>
- Papetti, M., Herman, I.M. (2002). Mechanism of normal and tumor-derived angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282(5), 947-C970.
- Patil, S. A., Addo, J. K., Deokar, H., Sun, S., Wang, J., Li, W., Suttle, D. P., Wang, W., Zhang, R., & Buolamwini, J. K. (2017). Synthesis, Biological Evaluation and Modeling Studies of New Pyrido[3,4-b]indole Derivatives as Broad-Spectrum Potent Anticancer Agents. *Drug designing: open access*, 6(1), 143. <https://doi.org/10.4172/2169-0138.1000143>
- Paul, M. K., & Mukhopadhyay, A. K. (2004). Tyrosine kinase - Role and significance in Cancer. *International journal of medical sciences*, 1(2), 101–115. <https://doi.org/10.7150/ijms.1.101>
- Pawson T. (2002). Regulation and targets of receptor tyrosine kinases. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 38 Suppl 5, S3–S10. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(02\)80597-4](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(02)80597-4)
- Pizzo, P. A., & Poplack, D. G. (1993). *Principles and practice of pediatric oncology*. Philadelphia: J.B. Lippincott.
- Planchard, D., Popat, S., Kerr, K., Novello, S., Smit, E. F., Faivre-Finn, C., Mok, T. S., Reck, M., Van Schil, P. E., Hellmann, M. D., Peters, S., & ESMO Guidelines Committee (2018). Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(Suppl 4), iv192–iv237. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>
- Pottier, C., Fresnais, M., Gilon, M., Jérusalem, G., Longuespée, R., & Sounni, N. E. (2020). Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer: Breakthrough and Challenges of Targeted Therapy. *Cancers*, 12(3), 731. <https://doi.org/10.3390/cancers12030731>
- Price, K. E., Saleem, N., Lee, G., & Steinberg, M. (2013). Potential of ponatinib to treat chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *OncoTargets and therapy*, 6, 1111–1118. <https://doi.org/10.2147/OTT.S36980>
- Rajareddy, A., & Murthy M, S. (2019). Synthesis, Characterization, And Anthelmintic Activity Of Novel Benzothiazole Derivatives Containing Indole Moieties. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 321–325. doi:10.22159/ajpcr.2019.v12i3.305

- Reinmuth, N., Mesters, R. M., Bieker, R., Hoffknecht, P., Berdel, W. E., & Thomas, M. (2004). Signal transduction pathways as novel therapy targets in lung cancer. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 45 Suppl 2, S177–S186. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2004.07.976>
- Rewcastle, G. W., Sutherland, H. S., Weir, C. A., Blackburn, A. G., Denny, W. A. (2005). An improved synthesis of isonitrosoacetanilides. *Tetrahedron Letters*, 46(50), 8719–8721. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.10.046>
- Riva S. (2006). Laccases: blue enzymes for green chemistry. *Trends in biotechnology*, 24(5), 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.03.006>
- Robinson, D., He, F., Pretlow, T., & Kung, H. J. (1996). A tyrosine kinase profile of prostate carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(12), 5958–5962. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.5958>
- Roskoski R., Jr (2005). Src kinase regulation by phosphorylation and dephosphorylation. *Biochemical and biophysical research communications*, 331(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.012>
- Sachdeva, H., Mathur, J., Guleria, A. (2020). Indole Derivatives as Potential Anticancer Agents: A Review. *J. Chil. Chem. Soc.*, 65(3), 4900–4907. <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-97072020000204900>
- San Juan A. A. (2008). Towards predictive inhibitor design for the EGFR autophosphorylation activity. *European journal of medicinal chemistry*, 43(4), 781–791. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.06.006>
- Sequist, L. V., Yang, J. C., Yamamoto, N., O'Byrne, K., Hirsh, V., Mok, T., Geater, S. L., Orlov, S., Tsai, C. M., Boyer, M., Su, W. C., Bennouna, J., Kato, T., Gorbunova, V., Lee, K. H., Shah, R., Massey, D., Zazulina, V., Shahidi, M., & Schuler, M. (2013). Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 31(27), 3327–3334. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.2806>
- Sicheri, F., & Kuriyan, J. (1997). Structures of Src-family tyrosine kinases. *Current opinion in structural biology*, 7(6), 777–785. [https://doi.org/10.1016/s0959-440x\(97\)80146-7](https://doi.org/10.1016/s0959-440x(97)80146-7)
- Silva, B. V. (2013). Isatin, a Versatile Molecule: Studies in Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 24(5), 1–14. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130089>
- Silva, J. F. M. da, Garden, S. J., Pinto, A. C. (2001). The chemistry of isatins: a review from 1975 to 1999. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12(3), 273–324. [doi:10.1590/s0103-50532001000300002](https://doi.org/10.1590/s0103-50532001000300002)
- Sonawane, R. P., Tripathi, R. R. (2013). The chemistry and synthesis of 1H-indole-2,3-dione (isatin) and its derivatives. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 7(1), 30–36.

- Soverini, S., Martinelli, G., Rosti, G., Iacobucci, I., & Baccarani, M. (2012). Advances in treatment of chronic myeloid leukemia with tyrosine kinase inhibitors: the evolving role of Bcr-Abl mutations and mutational analysis. *Pharmacogenomics*, 13(11), 1271–1284. <https://doi.org/10.2217/pgs.12.103>
- Strachan, T., Read, A. (2011). *Human Molecular Genetics*, Fourth edition, Garland Science: New York, Chapter 17.
- Sumpter, W. C. (1944). The chemistry of isatin. *Chem. Rev.*, 34(3), 393-434. <https://doi.org/10.1021/cr60109a003>
- Taylor, S. J., & Shalloway, D. (1996). Src and the control of cell division. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 18(1), 9–11. <https://doi.org/10.1002/bies.950180105>
- Tecen, K. (2016). Tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi edilen hastalarda tedavi izleminde, ilaç etkileşimleri ve yan etkilerin saptanması ve önlenmesinde klinik eczacının rolü. (Yüksek lisans tezi) Ankara Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Erişim adresi: <http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/handle/11655/2925?locale-attribute=tr>
- Ungefroren, H., Sebens, S., Groth, S., Gieseler, F., & Fändrich, F. (2011). Differential roles of Src in transforming growth factor- β regulation of growth arrest, epithelial-to-mesenchymal transition and cell migration in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *International journal of oncology*, 38(3), 797–805. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.897>
- Vine, K. L., Locke, J. M., Ranson, M., Pyne, S. G., & Bremner, J. B. (2007). In vitro cytotoxicity evaluation of some substituted isatin derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(2), 931–938. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.10.035>
- Wadhawan, A., Smith, C., Nicholson, R. I., Barrett-Lee, P., & Hiscox, S. (2011). Src-mediated regulation of homotypic cell adhesion: implications for cancer progression and opportunities for therapeutic intervention. *Cancer treatment reviews*, 37(3), 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2010.08.003>
- Wagner, M. J., Stacey, M. M., Liu, B. A., & Pawson, T. (2013). Molecular mechanisms of SH2- and PTB-domain-containing proteins in receptor tyrosine kinase signaling. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(12), a008987. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008987>
- Wagner, S. C., Ichim, T. E., Ma, H., Szymanski, J., Perez, J. A., Lopez, J., Bogin, V., Patel, A. N., Marincola, F. M., & Kesari, S. (2015). Cancer anti-angiogenesis vaccines: Is the tumor vasculature antigenically unique? *Journal of translational medicine*, 13, 340. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0688-5>
- Wheeler, D. L., Iida, M., & Dunn, E. F. (2009). The role of Src in solid tumors. *The oncologist*, 14(7), 667–678. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0009>

- Wu, L., Liu, Y., & Li, Y. (2018). Synthesis of Spirooxindole-O-Naphthoquinone-Tetrazolo[1,5-a]Pyrimidine Hybrids as Potential Anticancer Agents. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(9), 2330. <https://doi.org/10.3390/molecules23092330>
- Wu, Y. L., Cheng, Y., Zhou, X., Lee, K. H., Nakagawa, K., Niho, S., Tsuji, F., Linke, R., Rosell, R., Corral, J., Migliorino, M. R., Pluzanski, A., Sbar, E. I., Wang, T., White, J. L., Nadanaciva, S., Sandin, R., & Mok, T. S. (2017). Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 18(11), 1454–1466. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30608-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30608-3)
- Yan, A., Hu, X., Wang, K., & Sun, J. (2013). Discriminating of ATP competitive Src kinase inhibitors and decoys using self-organizing map and support vector machine. *Molecular diversity*, 17(1), 75–83. <https://doi.org/10.1007/s11030-012-9411-0>
- Yeaman T. J. (2004). A renaissance for SRC. *Nature reviews. Cancer*, 4(6), 470–480. <https://doi.org/10.1038/nrc1366>
- Yu, S., Liu, Y., Zhang, Z., Zhang, J., & Zhao, G. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of novel 2,3-indolinedione derivatives against mantle cell lymphoma. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 27(15), 3319–3327. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.06.009>
- Zhang, J., Yang, P. L., & Gray, N. S. (2009). Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature reviews. Cancer*, 9(1), 28–39. <https://doi.org/10.1038/nrc2559>
- Zhao, Y., Zhang, Y. N., Wang, K. T., & Chen, L. (2020). Lenvatinib for hepatocellular carcinoma: From preclinical mechanisms to anti-cancer therapy. *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*, 1874(1), 188391. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188391>

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ural Ufuk DEMİREL

ÖĞRENİM DURUMU:

Yüksek Lisans : Kimya ABD, Selçuk Üniversitesi Fen Bil. Ens. (2009-2013)

Lisans : Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Selçuk Üniversitesi (2004-2009)

MESLEKİ DENEYİM:

Fakülte Kurul ve Komisyonlarında Görev:

- Tanıtım Komisyonu (Komisyon Başkanı) (2015-2018)
- Mezunlar komisyonu (Komisyon Başkanı) (2019-Devam etmekte)
- Sosyal Etkinlik Komisyonu (Üye) (2018-Devam etmekte)
- Eczane Staj Komisyonu (Üye) (2015-Devam etmekte)
- Akreditasyon Komisyonu (Üye) (2018-Devam etmekte)
- Çekirdek Eğitim Programı Komisyonu (Üye) (2015-Devam etmekte)
- Araştırma Projeleri ve Basılı Yayın Komisyonu (Üye) (2015-Devam etmekte)

Ders Asistanlıkları:

- PHAR 211 Organik Kimya I (2015-Devam etmekte)
- PHAR 315 Farmasötik ve Medisinal Kimya I (2015- Devam etmekte)
- PHAR 212 Organik Kimya II (2015- Devam etmekte)
- PHAR 316 Farmasötik ve Medisinal Kimya II (2015- Devam etmekte)

Laboratuvar Asistanlıkları:

- PHAR 211 Organik Kimya I Laboratuvar Uygulamaları (2015-Devam etmekte)
- PHAR 315 Farmasötik ve Medisinal Kimya I Laboratuvar Uygulamaları (2015- Devam etmekte)
- PHAR 212 Organik Kimya II Laboratuvar Uygulamaları (2015- Devam etmekte)
- PHAR 316 Farmasötik ve Medisinal Kimya II Laboratuvar Uygulamaları (2015- Devam etmekte)
- PHAR 361 Farmasötik Teknoloji I Laboratuvar Uygulamaları (2015-2016 Güz Dönemi).

YAYINLAR:

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:

Demirel, U. U., Yılmaz, A., Türkdağı, H., Öztürk, B., & Arslan, U. (2019). Investigation of Some 3H-Quinazolin-4-One Derivatives in Vitro Antimicrobial Effect and Cytotoxicity on Human Gingival Fibroblasts. *Polycyclic Aromatic Compounds*, DOI: 10.1080/10406638.2019.1689513

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler

Demirel, UU., Karaman, F.E., Tanol, M., Özden, S., Göker, H., Ölgen, S. Design, Synthesis, Adme And Molecular Docking Studies of Novel Urea And Sulfonamide Derivatives of Isatine as Potential Anticancer Agents. (Sözlü Sunum) 13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-13). Ankara 2021

Determination of Novel Urea and Sulfonamide Derivatives of Isatin Schiff Bases as Potential Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor by Molecular Docking Studies. (Poster Sunumu) 13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-13). Ankara 2021

Demirel, U. U., Yılmaz, A., Arslan, U. Investigation of Some 3-aryl amine 2-methly-substituted 3H-quinazolin-4-ones In Vitro Antimicrobial Effect And Cytotoxicity on Human Gingival Fibroblasts. (Poster Sunumu) 12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-12). Ankara 2018

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler:

Demirel, U.U., Yılmaz, A., Arslan, U. Kinazolin-4(3H)-on ve Bazı Türevlerinin Sentezlenmesi in Vitro Antimikrobiyal Etkisinin ve İnsan Gingival Fibroblastlarında Sitotoksitesinin Araştırılması. (Poster Sunumu) 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi. Antalya 2017

Kırdı, İ., Arslan, G., Demirel, U.U., Yılmaz, A. Kaliks[4]arenin Schiff Baz Türevi ile Membran Hazırlama. (Sözlü Sunum) 6. Ulusal Analitik Kimya Kongresi. Hatay, 2012

Demirel, U.U., Erdem, S., Arslan, G., Yılmaz, A. Kaliks[4]arenin "Upper Rim" Üzerinden Schiff Baz Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Dikromat Anyon Ekstraksiyonunda Kullanılması. (Poster Sunumu) 25. Ulusal Kimya Kongresi OP-364, Erzurum, 2011.

Projeler:

Selçuk Üniversitesi 11201014 nolu BAP projesi Yardımcı Araştırmacı.

Proje Yürütücüsü Prof. Dr. Aydan Yılmaz

Proje Adı: "Bazı Kinazolinon Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi" 2009-2013 (Tamamlandı)

Selçuk Üniversitesi 11401122 nolu BAP projesi Yardımcı Araştırmacı.

Proje Yürütücüsü Prof. Dr. Gülşin Arslan

Proje Adı:“Kaliksarenler İle Membran Hazırlanması ve Cr(VI) Taşınması İçin Kullanılması”
2011-2014 (Tamamlandı)

