

**YENİ 5-KLORO-6-METOKSİ-2-[4-(SÜBSTİTÜE)BENZİLİDEN]-2,3-DİHİDRO-
1H-İNDEN-1-ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK ETKİ
ÇALIŞMALARI**

Yüksek Lisans Tezi

Sevtem GÖKBULUT

Eskişehir, 2017

**YENİ 5-KLORO-6-METOKSİ-2-[4-(SÜBSTİTÜE)BENZİLİDEN]-2,3-DİHİDRO-
1H-İNDEN-1-ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK ETKİ
ÇALIŞMALARI**

Sevtem GÖKBULUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Kimya Ana Bilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ocak, 2017**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Sevtem Gökbulut'un "Yeni 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Etki Çalışmaları" başlıklı tezi 13/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR	
Üye	: Doç. Dr. Murat Kadir ŞÜKÜROĞLU	
Üye	: Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP	



ÖZET

YENİ 5-KLORO-6-METOKSİ-2-[4-(SÜBSTİTÜE)BENZİLİDEN]-2,3-DİHİDRO-1H-İNDEN-1-ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK ETKİ ÇALIŞMALARI

Sevtem Gökbulut

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak, 2017

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR

Kanserli hastaların sayısının gün geçtikçe artması nedeniyle, güçlü aktiviteye ve düşük toksisiteye sahip yeni antikanser ajanların geliştirilmesi önem kazanmıştır.

Şalkonlar, flavonoit yapısındaki doğal veya sentetik bileşiklerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, şalkon bileşiklerinin oldukça yüksek antikanser aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir.

Bu çalışmada, 5-kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-onun *p*-süstitüe benzaldehit türevleri ile reaksiyonu sonucu yeni şalkon türevleri elde edilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme adenokarsinoma ve HeLa insan serviks karsinoma hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ayrıca bileşiklerin NIH/3T3 fare embriyonik fibroblast hücre dizisine karşı toksisiteleri araştırılmıştır. **7** no'lu bileşiğin her iki kanser hücre dizisine karşı en fazla sitotoksik etkili bileşik olduğu tespit edilmiştir. Antikanser etkili bileşiklerin her iki kanser hücre dizisi üzerinde DNA sentez inhibisyon etkileri değerlendirilmiştir. **3** no'lu bileşik HeLa hücreleri üzerinde daha fazla DNA sentezi inhibisyonuna neden olurken, **10** no'lu bileşik MCF-7 hücreleri üzerine daha fazla DNA sentez inhibisyonuna neden olmuştur. En aktif bileşiklerin her iki kanser hücre dizisi üzerine apoptotik etkileri araştırılmıştır. **7** ve **10** No'lu bileşikler MCF-7 hücrelerine karşı apoptotik etki gösterirken, **2** ve **3** no'lu bileşikler HeLa hücrelerine karşı en aktif apoptotik bileşikler olarak tespit edilmiştir. Ayrıca **2** no'lu bileşik HeLa hücreleri üzerinde en fazla kaspaz 3 aktivasyonuna neden olan bileşik olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Şalkon, İnden, Antikanser Aktivite, Apoptoz, DNA Sentez İnhibisyonu

ABSTRACT

SYNTHESIS of NEW 5-CHLORO-6-METHOXY-2-[4-(SUBSTITUTED)BENZYLIDENE]-2,3-DIHYDRO-1*H*-INDEN-1-ONE DERIVATIVES and INVESTIGATION of THEIR BIOLOGICAL EFFECTS

Sevtem GÖKBULUT

Department of Pharmaceutical Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January, 2017

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR

Due to the increased number of cancer patients, the development of new and potent anticancer agents with low toxicity has gained great importance.

Chalcones are natural or synthetic flavonoid compounds. Recent studies indicate that chalcone compounds have fairly high anticancer activity.

In this study, new chalcone derivatives were obtained *via* the reaction of 5-chloro-6-methoxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-one with *p*-substituted benzaldehyde derivatives.

The cytotoxic effects of the synthesized compounds on MCF-7 human breast adenocarcinoma and HeLa human cervix carcinoma cell lines were evaluated using MTT assay. In addition, the toxicities of the compounds against NIH/3T3 mouse embryonic fibroblast cell line were investigated. The effective anticancer compounds were evaluated for their DNA synthesis inhibition effects on both cell lines. Compound **10** caused more DNA synthesis inhibition on MCF-7 cells, whereas compound **3** caused more DNA synthesis inhibition on HeLa cells. The apoptotic effects of the most effective compounds on both cell lines were investigated. Compounds **2** and **3** were determined as the most apoptotic compounds against HeLa cells, whilst compounds **7** and **10** showed apoptotic activity against MCF-7 cells. Besides, compound **2** was found as the compound that caused the most caspase-3 activation on HeLa cells.

Keywords: Chalcone, Indene, Anticancer Activity, Apoptosis, DNA Synthesis Inhibition

ÖNSÖZ

Kanser hücrelerde kontrolsüzce büyümeye, çoğalmaya ve yayılmaya sebebiyet veren, birçok problemi bünyesinde barındıran letal bir hastalıktır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'na (IARC) göre, dünya nüfusunun mevcut hastalıklardan ölüm oranına bakıldığında, kanser ikinci sırada yer almaktadır. Bu yüzden, medisinal kimya alanında antikanser ilaç tasarlama ve geliştirme çabaları önem kazanmıştır.

Bu tezde, antikanser ajan olarak yeni 5-kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanser hücresi ve HeLa insan serviks kanser hücre dizileri üzerindeki antikanser etkileri araştırılmıştır.

Tezimin tüm sürecinde bilgi ve tecrübeleriyle bana ışık tutan, büyük bir hoşgörü ve sabır ile araştırmalarımda bana kolaylık sağlayan, laboratuvarında çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım, sayın hocam Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR'e;

Tüm araştırmalarım boyunca her türlü yardımını, güler yüzünü, bilgi ve donanımını benden esirgemeyen, değerli hocam Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP'a;

Her sıkıntıda yanımda olan, dost elini bir an olsun bırakmayan, yanında olmaktan keyif aldığım, her kim olursa olsun yardımseverliğinden ödün vermeyen, güzel kalpli dostum, Araş. Gör. Betül KAYA'ya;

Laboratuvar çalışmalarımnda her zaman yardımcı olan, güler yüzlü arkadaşım Araş. Gör. Belgin SEVER'e;

Sentezlediğim maddelerin biyolojik etki çalışmalarında bana yardımcı olan Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ'ye;

Hayatımın her anında, üzüntümde sevincimde yanımda olan, maddi manevi emeklerini üzerimde hissettiğim, bugünlerimin koca mimarı güzel ailem; canım annem Güner GÖKBULUT'a, canım kardeşim Tuğçe GÖKBULUT'a ve canım babam Zeki GÖKBULUT'a;

Tezimi hazırlama sürecim boyunca bana destek olan, sabrı ve sonsuz şefkatiyle bana huzur veren, mutluluğuma mutluluk katan, yarınlarımda mimarı çok sevgili, Ozan Can SATIOĞLU'na;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Sevtem GÖKBULUT

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	4
2.1. Kanser İle İlgili Genel Bilgiler	4
2.2. Şalkon Bileşikleri İle İlgili Genel Bilgiler	7
2.3. Şalkonların Sentez Yöntemleri	8
2.4. Sentezi Gerçekleştirilen Şalkon ve Bunların Biyoizosteri Auron Türevlerinin Antikanser Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar	12
3. GEREÇLER.....	24
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	25
4. YÖNTEM	26
4.1. Yöntem A: 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro- 1H-inden-1-on Türevlerinin Genel Sentezi	26
4.2. Elde Edilen Bileşiklerin Analizi.....	27
4.2.1. Erime noktası (E.N.) tayini.....	27
4.2.2. C, H, N tayini	27
4.2.3. IR spektrumlarının alınması	27
4.2.4. ¹ H-NMR spektrumlarının alınması	27

4.2.5.	¹³ C-NMR spektrumlarının alınması	27
4.2.6.	Kütle spektrumlarının alınması	27
4.2.7.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) spektrumlarının alınması.....	27
4.2.8.	İnce tabaka kromatografisi (İTK) çalışmaları	28
4.3.	Biyolojik Etki Testleri.....	28
4.3.1.	Hücre kültürü yöntemi ile <i>in vitro</i> sitotoksik etki çalışmaları.....	28
4.3.1.1.	<i>MTT testi</i>	28
4.3.2.	DNA sentez inhibisyon deneyi	29
4.3.3.	Apoptotik etki çalışmaları.....	29
4.3.3.1.	<i>Anneksin V FITC: erken faz apoptozun belirlenmesi</i>	29
4.3.3.2.	<i>Kaspaz-3 aktivitesinin akım sitometri ile belirlenmesi</i>	30
5.	BULGULAR ve TARTIŞMA.....	31
5.1.	Sentez Çalışmaları.....	31
5.1.1.	5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(pirolidin-1-il)benziliden]-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (1).....	31
5.1.2.	5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(dimetilamino)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (2).....	32
5.1.3.	5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(dietilamino)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (3).....	33
5.1.4.	N-[4-[(5-Kloro-6-metoksi-1-okso-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -inden-2-iliden)metil]fenil]asetamid (4).....	34
5.1.5.	5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(piperidin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (5).....	35
5.1.6.	5-Kloro-6-metoksi-2-(4-morfolinobenziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (6).....	36
5.1.7.	5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (7).....	37
5.1.8.	5-Kloro-6-metoksi 2-(4-(1 <i>H</i> -imidazol-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (8).....	38
5.1.9.	5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-4-il)benziliden]-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on (9).....	40

5.1.10. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(2-morfolinoetoksi)benziliden)-2,3-dihidro- 1 <i>H</i> -inden-1-on (10).....	41
5.2. Sentez Yönteminin Değerlendirilmesi.....	42
5.2.1. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro- 1 <i>H</i> -inden-1-on bileşiğinin elde edilişi ...	42
5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi	43
5.3.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi... ..	43
5.3.2. ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	44
5.3.3. ¹³ C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi... ..	45
5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi... ..	45
5.4. Biyolojik Etki Testlerinin Değerlendirilmesi.....	45
5.4.1. Sitotoksik etki testlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi.....	45
5.4.2. DNA sentezi inhibisyon etki testlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi.....	47
5.4.3. Apoptotik etki testlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi... ..	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKÇA.....	59
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Sentezlenen Sonuç Bileşikleri.....	3
Çizelge 5.1. Sitotoksik Etki Testi Sonuçları (μM).....	46
Çizelge 5.2. Bileşik Uygulanan HeLa Hücreleri Anneksin V-FITC/Propidyum İyodür Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri.....	50
Çizelge 5.3. Bileşik Uygulanan HeLa Hücreleri Kaspaz 3 Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri	53
Çizelge 5.4. Bileşik Uygulanan MCF-7 Hücreleri Anneksin V-FITC/Propidyum İyodür Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Şalkon, Flavon ve Auron'un Kimyasal Yapıları	7
Şekil 2.2. Flavonoit Türevlerinin Kimyasal Yapıları	8
Şekil 2.3. Claisen-Schmidt Tepkimesi	9
Şekil 2.4. Killi Ortamda Şalkonların Sentezi... ..	9
Şekil 2.5. Doğal Fosfat Katkılı Katalizörler İle Şalkonların Sentezi.....	9
Şekil 2.6. Dimetilamonyum Dimetilkarbamat Katalizörlüğünde Şalkonların Sentezi	10
Şekil 2.7. Trimetoksifenol'den Hareketle Şalkon Sentezi.....	10
Şekil 2.8. Zeolit Kullanılarak Şalkonların Sentezi.....	10
Şekil 2.9. Na-/Cs-Norit Katalizörlüğünde Şalkon Sentezi	11
Şekil 2.10. K ₂ CO ₃ /DMF Varlığında Şalkon Sentezi	11
Şekil 2.11. SiO ₂ /H ₂ SO ₄ Varlığında Şalkon Sentezi.....	11
Şekil 2.12. Ba(OH) ₂ .8H ₂ O Varlığında Şalkon Sentezi.....	11
Şekil 2.13. Alüminyum Oksit Katalizörlüğünde Şalkon Sentezi	12
Şekil 2.14. Ba(OH) ₂ Katalizörlüğünde Mikrodalga İle Şalkon Sentezi	12
Şekil 2.15. 1-[3-(4-Metoksifenil)-4-okso-2,4-dihidroindeno[1,2-c]pirazol-5-il]-3- morfolino üre.....	13
Şekil 2.16. Sinamiliden Türevleri.....	13
Şekil 2.17. 2-[4-[3-(1 <i>H</i> -imidazol-1-il)propoksi]-3-metoksibenzil]-2,3-dihidro- 1 <i>H</i> -inden-1-on.....	14

Şekil 2.18. 2-[3,4-Bis(dihidroksimetil)benziliden]-4,5,6-trimetoksi-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on.....	15
Şekil 2.19. 2-((3-(Fenil/4-metoksimetil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)metilen)-1 <i>H</i> -inden-1,3(2 <i>H</i>)-dion.....	16
Şekil 2.20. 2-((3-(4-Metoksifenil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)metilen)-1 <i>H</i> -inden-1,3(2 <i>H</i>)-dion	17
Şekil 2.21. 5,6-Dimetoksi-2-(3-(2-okso-2-feniletoksi)benziliden)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on.....	17
Şekil 2.22. 2-(Benzo[d][1,3]Dioksol-5-ilmtilen)-4,5,6-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on.....	18
Şekil 2.23. 2-(3-Hidroksi-4-metoksibenziliden)-4,5,6-trimetoksi-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on.....	19
Şekil 2.24. 4-Hidroksi-6-metoksiauron ve 4,6-Dimetoksiauron	19
Şekil 2.25. 2-(3-hidroksi-4-metoksibenziliden)-5,6,7-trimetoksibenzofuran-3(2 <i>H</i>)-on.....	20
Şekil 2.26. 5-Hidroksi-3-(3,4,5-trihidroksibenziliden)benzofuran-2(3 <i>H</i>)-on	20
Şekil 2.27. 4,6-Dimetoksiauron ve 4-Hidroksi-4-metoksiauron Bileşikleri.....	21
Şekil 2.28. 4,6-Dimetoksiauron Türevleri.....	21
Şekil 2.29. 4-Süstitüe-5-Hidroksiauron Türevleri.....	22

Şekil 2.30. 6-Hidroksi-2-(2-hidroksi-3-metoksibenziliden)benzofuran- 3(2 <i>H</i>)-on	22
Şekil 2.31. 2-[4-[2-(4-Metoksifenil)-2-oksoetoksi]benziliden] benzofuran-3-on	23
Şekil 4.1. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro- 1 <i>H</i> -inden-1-on Türevlerinin Elde Edilmesi.....	26
Şekil 5.1. Sentezlenen Şalkon Bileşiklerinin Genel Sentez Mekanizması.....	43
Şekil 5.2. Bileşik 2, 3, 4 ve Cisplatinin HeLa Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları.....	48
Şekil 5.3. Bileşik 5, 6, 7 ve Cisplatinin HeLa Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları.....	48
Şekil 5.4. Bileşik 4, 7, 10 ve Cisplatinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları.....	49
Şekil 5.5. Bileşiklerin HeLa Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri.....	51
Şekil 5.6. Bileşiklerin HeLa Hücreleri Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivite Sonuçları.....	54
Şekil 5.7. Bileşiklerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri	56

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

17β-HSD1	: 17 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz tip 1
A549	: İnsan Akciğer Kanseri Hücreleri
ABCG2	: Meme Kanseri Direnç Proteini
APC geni	: Adenomatöz Polipozis Koli
br s	: Geniş Singlet
BrdU	: 5-Bromo-2'-deoksiüridin
CDCl₃	: Dörtörokloroform
CDK	: Sikline Bağımlı Kinaz
COLO320	: İnsan kolon kanser hücresi
d	: Dublet
dd	: Dubletin Dubleti
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DU-145	: İnsan Prostat Kanseri
E.N.	: Erime Noktası
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
ESI	: Elektrosprey İyonlaştırma
FBS	: Fetal Sığır Serumumu
HCT116	: Kolon Kanseri
HeLa	: İnsan Serviks Kanseri Hücre Dizisi
HEPG2	: Karaciğer Kanseri
HFB4	: Normal melanosit hücresi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometre
HTC-116	: Kolon Kanseri

HUVEC	: İnsan Göbek Ven Endotelial Hücresi
IAS-A	: İzaoarostatin
IC₅₀	: %50 Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu
IR	: İnfrared
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
J	: Etkileşme Sabiti
K562	: Kronik Miyeloid Lösemi
m	: Multiplet
MCF-7	: Meme Kanseri Hücre Hattı
MDA-MB-231	: Agresif İnsan Meme Kanseri
MDA-MB-435	: P-Glikoproteine Duyarlı Meme Kanseri Hücresi
MS	: Kütle
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NCI	: Uluslararası Kansere Enstitüsü
NCI/ADR-RES	: Adrimisine Dirençli Meme Kanseri Hücre Hattı
NIH/3T3	: Fare Embriyonik Fibroblast Hücre Dizileri
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PAR	: Dirençli Fare Lenfoma
PARP	: Poli ADP Riboz Polimeraz
PBS	: Fosfat Tuz Tamponu
ppm	: Milyonda Bir Kısım (NMR'da ölçü birimi)
q	: Quartet
s	: Singlet
t	: Triplet
TMS	: Tetrametilsilan
δ	: Kimyasal Kayma

1. GİRİŞ

Kanser, sağlıklı bir insan vücudundaki hücrelerde gerçekleşmemesi gereken kontrolsüz bölünme, çoğalma ve tümörleşme olarak tanımlanır. Dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan kanserin, 2030 yılına kadar hızla artarak birinci sıraya yerleşeceği düşünülmektedir (http-1).

Kanserin etiyolojisi bilinmemekle birlikte, kanserin meydana gelmesinin ekzojen ve endojen nedenleri olduğu düşünülmektedir. Kalıtsal yatkınlığın ve Deoksiribonükleik asit (DNA) onarım bozukluklarının yanı sıra, başta sigara kullanımının artması, kötü çevresel faktörler ve sağlıksız beslenme alışkanlıkları kanser oluşumuna neden olmaktadır (http-2).

Günümüzde kanser tedavisi; cerrahi operasyon, kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi ve endokrin tedavisi ile yapılmaktadır. Tedavi seçimleri hastanın yaşına, tümörün tipine, tümörün aşamasına ve yerine, tümörün önceki tedaviye direncine bağlıdır. Her tedavi tipi bazı sınırlamaları da beraberinde getirir. Bu yüzden tedavilerin uygun birleşimi, sonucun başarılı bir şekilde ortaya çıkmasını sağlar (Limisale, 2015).

Cerrahi operasyon, organa yerleşen başlangıç seviyesindeki tümörlerin yok edilmesinde en etkili yoldur. Tümörün ameliyatla tedavisinde, ameliyatın başarılı olmasında tümörün erken teşhisi önemlidir (Limisale, 2015).

Diğer bir tedavi şekli olan radyoterapi, tümör dokularına letal dozda iyonlaştırıcı radyasyon verilmesini içerir ve bu özellikle DNA hasara sebep olabilir. Işın tedavisinin etkisi normal dokularla karşılaştırıldığında tümörlerde daha belirgindir. Fakat tedavide yüksek oranda başarı elde etmek için cerrahi operasyon ile kemoterapi tedavisi birlikte kullanılır (Limisale, 2015; Symonds, 2013).

Ameliyat ve ışın tedavisi tümörün başlangıç dönemindeki tedavisi için etkili iken, kemoterapi metastatik tümör dokularına ulaşmak için uygulanır (Limisale, 2015; Symonds, 2013; Brown, 2011). Bu tedavilerin kanser hücrelerini öldürücü etkisine rağmen; kemoterapi uygulaması, saç folikül hücreleri, gastrointestinal mukoza, hematopoetik kök hücreleri gibi normal dokulara zararlı yan etkiler meydana getirir.

Kısacası kemoterapötik ilaçların sağlıklı insan hücrelerini etkilemeden, kanser hücrelerini seçici olarak etkileyip üremelerini durdurması ya da bunları yok etmesi mümkün olmamaktadır. Ayrıca, kemoterapide kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişmesi de önemli bir sorundur. Bu gelişen direnç ayrı ayrı kanser hücrelerine de

taşınabilmektedir. Bu nedenle antikanser ilaçların seçicilikleri sınırlıdır (Limisale 2015; Nepali ve ark.; 2014, Rebucci ve ark., 2013; Symonds ve ark., 2013; Caley, 2012; Brown ve ark., 2011; Nussbaumer ve ark., 2011; Mukherjee ve ark., 2001; Harborne ve ark., 2000).

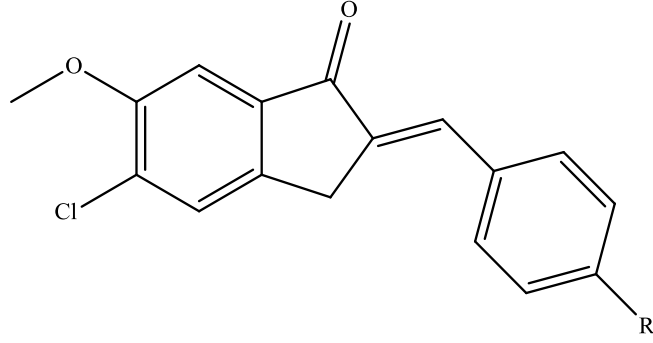
Son yıllarda bu tedavilerin uygulanmasında kullanılan kemoterapötik ilaçların toksisitelerini ve yan etkilerini azaltmak hatta yok etmek, kanserli hastaların hayat standartlarını yükseltmek ve hastalığın ömrünü kısaltmak amacıyla, düşük toksisiteli ve yüksek etkili yeni antikanser ajanların keşfi, araştırmacıların inceleme konusu olmuştur.

Şalkonlar, flavonoidlerin veya izoflavonoidlerin prekürsörü olan bileşiklerdir. Doğal şalkonlar ve onların sentetik analogları geniş biyolojik aktivite spektrumuna sahiptirler. Bu yüzden şalkonlara olan ilgi akademide ve endüstride oldukça artmış durumdadır (Sahu ve ark., 2012). Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar, şalkonların antikanser aktivitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, araştırmacıları yeni şalkon bileşiklerini sentezlemeye ve bunların antikanser aktivitesini araştırmaya yöneltmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında;

- Yeni 5-kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on türevlerinin sentezlenmesi (Çizelge 1) ve yapılarının aydınlatılması,
- Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme ve HeLa insan serviks kanser hücre dizilerine karşı antikanser etkilerinin araştırılması,
- Antikanser etkili bileşiklerin DNA sentez inhibisyon etkilerinin değerlendirilmesi,
- Önemli sitotoksik etki gösteren bileşiklerin MCF-7 insan meme ve HeLa insan serviks kanser hücre dizilerine karşı apoptotik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çizelge 1.1. Sentezlenen Sonuç Bileşikleri



Bileşik	R
1	Pirolidinil
2	Dimetilamino
3	Dietilamino
4	Asetamido
5	Piperidinil
6	Morfolinil
7	4-Metil-1-piperazinil
8	1H-İmidazol-1-il
9	1H-1,2,4-Triazol-1-il
10	2-Morfolinoetoksi

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Kanser İle İlgili Genel Bilgiler

Kanser dünyada en sık görülen sağlık problemlerinden birisidir. Kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok insan ölümüne sebep olan ikinci hastalık kanserdir. Bu durum da kanseri insan sağlığı için önemli bir sorun haline getirmektedir. Kanseri hücrelerin çoğalması ve ölümü arasındaki dengenin bozulmasına sebep olan gen ekspresyonundaki çoklu değişikliklerin neden olduğu hücrelerin anormal bir biçimde çoğalması durumudur. Kanseri tek bir hastalık olarak değil birçok hastalığı içinde barındıran bir hastalık olarak ifade edilmektedir. Vücuttaki sağlıklı hücreler belli bir döngü içerisinde gerekli şartlar oluştuğunda bölünmektedirler. Ancak kanser hücreleri sürekli bölünme eğilimi göstermekte ve sonsuz çoğalma kapasitesi göstermektedirler (Sever, 2015, Şenel, 2003).

Dünyada kanser hastalarının sayısı her geçen gün artmaktadır. 2005 yılında dünyada 12 milyon kişi kansere yakalanmış ve 7 milyon kişi kansere bağlı sebeplerle ölmüştür. 2020 yılında her yıl için 20 milyon, 2030 yılında ise her yıl için 24 milyon kişi kansere yakalanacaktır. 2030 yılında 17 milyon insan kanserden hayatını kaybedecek olup, tüm dünyada 75 milyon insan kanserle yaşamak zorunda kalacaktır (Sever, 2015).

Günümüzde kanserin kesin sebebi bilinmemektedir. Kanserin %10-15'i kalıtsal sebeplere bağlı olarak ortaya çıkarken, %85-90'ı ise DNA'nın mutajenlere maruz kalmasına, hücre DNA'sındaki progresif değişiklikler ile replikasyondaki hatalara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.

Kalıtsal olarak oluşan kanserler, tümör baskılayıcı genlerde oluşan mutasyona bağlı olarak ortaya çıkmaktadırlar. Kişilerde kalıtsal olarak kanser oluşumu için ebeveynlerin her ikisinin de genlerinde mutasyon olması gerekmektedir ki tek ebeveynde oluşan mutasyon bireyde kanser oluşturmamaktadır. Kalıtsal olarak oluşan kanserlere örnek olarak meme ve yumurtalık kanseri verilebilir. Ayrıca çocukluk çağı kanserleri de (özellikle lösemi) kalıtsal olarak oluşmaktadır (Yokuş, 2012).

Kalıtsal olarak oluşan kanserler dışında birçok faktöre bağlı olarak da bireylerde kanser gelişebilmektedir. Bu faktörlere sigara, radyasyon, güneş ışığı, alkol, virüsler, bakteriler, çeşitli kimyasal maddeler, beslenme alışkanlıkları ve çevresel koşullar örnek olarak verilebilir (Yokuş, 2012, Kutluk, 1992; Şenel, 2003).

Sigaranın birçok zararı olduğu bilinen bir gerçektir. Buna verilebilecek en kötü örnekler ise akciğer ve mesane kanserine sebep olmasıdır. Sigara içimine bağlı olarak

akciğerlerde biriken benzopiren, zamanla akciğer hücrelerinin içine girerek guanin bazına bağlanmakta ve guaninin hücrede timin bazı olarak algılanmasına sebep olmaktadır. Bu duruma bağlı olarak adenin bazının karşısına timin diye algılanan guanin geçmekte ve DNA'daki ilk hatalar oluşmaya başlamaktadır. Zamanla oluşan bu bozunmalar birikerek bireyde kanser oluşumuna sebep olmaktadır (Yokuş, 2012).

Kanser oluşmasında bir diğer önemli faktörde radyasyondur. X ışınları, gama ışınları ve ultraviyole ışınlar yüksek enerjili yapıya sahiptirler. Bu yapılarına bağlı olarak biyolojik moleküllerden elektron koparabilir veya molekülü pozitif yükle yükleyebilirler. DNA'nın radyasyona maruz kalmasına bağlı olarak DNA'da kırıklar oluşmaktadır ve bu kırıklar onarılmadığı takdirde kanser oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Yokuş, 2012; Heynick, 2003).

Beslenme alışkanlıkları, birçok hastalıkta önemli bir role sahip olduğu gibi kanser oluşumunda da etkilidir. Sürekli alkol kullanımı, zengin kırmızı etli diyetler, iyottan fakir beslenme, az miktarda meyve ve sebze tüketimi kansere sebep olabilmektedir. Özellikle mide, kolon, yemek borusu ve bağırsak kanserlerinin oluşumu beslenme alışkanlıklarıyla yakından alakalıdır. Meyve ve sebzelerde bolca bulunan antioksidanlar, hücrelerde serbest radikalleri, özellikle reaktif oksijen bileşiklerini tutarak DNA'ya ve hücreye zarar vermesini önlemektedirler (Yokuş, 2012; Kutluk, 1992).

Kimyasal karsinojen maddelerle temas veya mesleki olarak maruz kalmak kanser oluşumuna sebep olabilmektedir. Boya sanayisinde çalışan kişilerde mesane kanseri, plastik sanayisinde çalışan kişilerde ise karaciğer kanseri sıkça görülmektedir. Mesleki maruziyet dışında birçok kimyasal maddeyle temas kanseri tetiklemektedir. Asbest, kömür tozu, naftalin, katran, hardal gazı, madeni yağlar vb. maddeler birçok kanserin oluşumunda etkili maddelerdir (Yokuş, 2012; Mathur, 2015).

Kanserler, oluştukları organlara göre farklı adlandırmalara sahiptirler. Karsinomalar, epitel ve bezsel dokularda oluşan kanserlerdir. Meme ve kolon kanseri karsinoma olarak adlandırılmaktadır. Sarkomalar kemik ve yumuşak doku kaynaklı kanserlere verilen genel isimdir. Lenfomalar, lenf düğümleri ve bağışıklık sistemi organlarında ortaya çıkan kanserlerdir. Lösemi, kan kemik iliğinde oluşan kanser türüdür. Son olarak ise adenomlar, tiroit ve hipofiz gibi hormon salgılayan dokularda oluşan kanserlere verilen genel isimdir (Mathur, 2015).

Kanserin multifaktöriyel bir hastalık olmasının yanı sıra organlarda oluşan kanserler oluşumları bakımından ve yapısal olarak da farklılık göstermektedirler. Örnek olarak bağırsak kanseri verilebilir. Bağırsak kanseri polipli ve polipsiz olarak ikiye ayrılmaktadır. Polipli bağırsak kanseri, hücrede yavaşlatıcı görev yapan Adenomatous Polyposis Coly genindeki (APC) mutasyona bağlı olarak oluşurken, polipsiz bağırsak kanseri DNA onarım genlerindeki mutasyona bağlı olarak oluşmaktadır (Yokuş, 2012).

Kanserin teşhisinde gösterdiği semptomlar çok önemli rol oynamaktadır. Kanser semptomları kanser türüne göre değişiklik göstermektedir. Akciğer kanseri, öksürük, nefes darlığı ya da göğüs ağrısı gibi semptomlar gösterirken kolon kanserinde genellikle ishal, kabızlık ve kanlı dışkı semptom olarak karşımıza çıkmaktadır. Bazı kanserler ise semptom oluşturmamaktadır. Pankreas kanseri belli bir evreye ulaşıncaya kadar hiçbir semptom oluşturmamaktadır (Mathur, 2015, Yokuş, 2012).

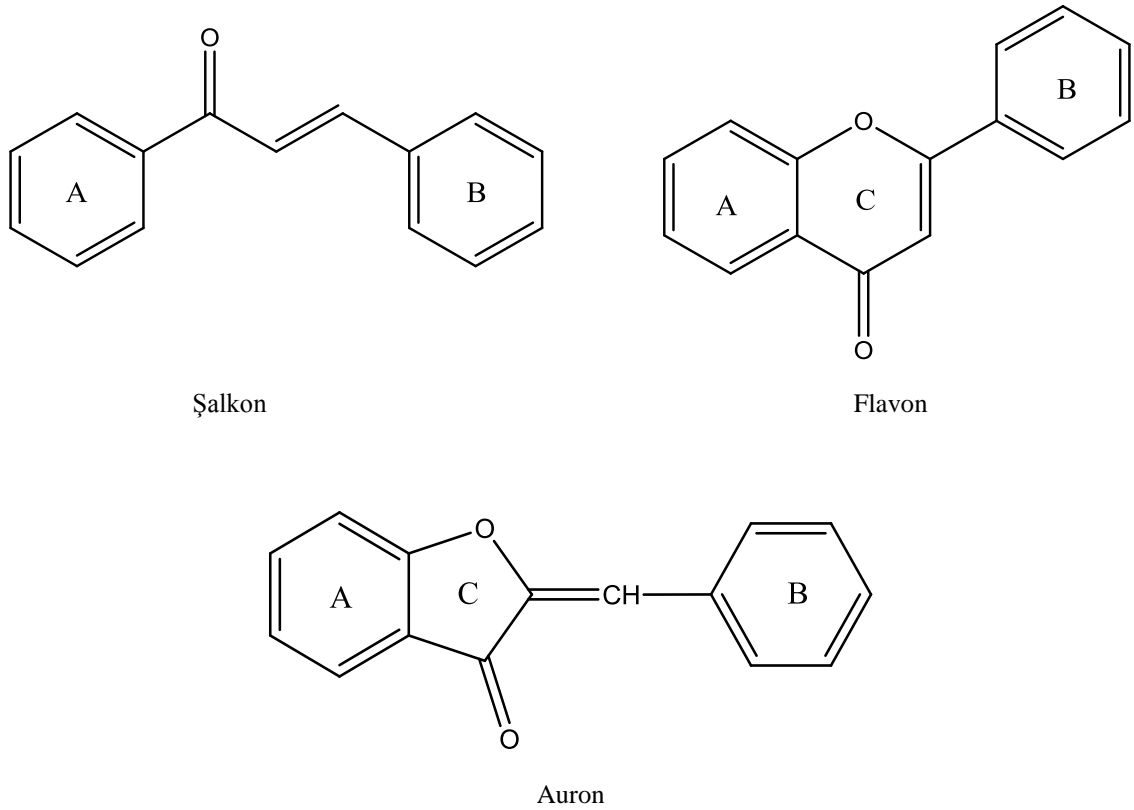
Genel kanser semptomları olarak; titreme, yorgunluk, ateş, iştah kaybı, keyifsizlik, gece terlemeleri, kilo kaybı, geçmeyen öksürük ve ses kısıklığı, siğil oluşumu, bağırsak ve mesane alışkanlıklarında ki değişiklikler, açıklanamayan kanama ve akıntı, iyileşmeyen yaralar ve yutmada zorluk verilebilir (Mathur, 2015).

Kanserin bütün organlarda ortaya çıkabilmesi farklı tedavi yöntemlerinin bir arada kullanılmasını gerektirmektedir. Kanserde kullanılan genel tedavi yöntemleri cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapidir. Bazı kanser türlerinde bunların ikisi veya hepsi bir arada kullanılmaktadır. Cerrahi tedavi kanser tedavisinde kullanılan en eski yöntem olarak tanımlanabilir. Kanserli dokunun vücuttan alınması ile kanseri ortadan kaldırmak amaçlanmaktadır. Radyoterapide ise X ışınları veya gama ışınları kullanılarak kanserli hücrenin yapısı bozulmaktadır. Radyoterapide sağlıklı vücut hücreleri de etkilenmesine rağmen kanserli hücelere göre radyoterapiye daha dayanıklı oldukları gözlenmektedir. Kanser tedavisinde bir diğer tedavi yöntemi ise kemoterapidir. Kemoterapide ilaçlarla ve kimyasal maddelerle kanser tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Şu an kullanımda olan birçok kanser ilacı bulunmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan diğer tedavi yöntemleri ise immünoterapi, hormon tedavisi ve lazer tedavisidir (Şenel, 2003, Kutluk, 1992).

Günümüzde kanserin birçok faktöre bağlı olması, vücudun tüm organlarında ortaya çıkabilmesi ve kanserde kullanılan kemoterapötik ilaçların yetersiz kalmasından dolayı birçok kimyasal bileşik antikanser aktivitesi yönünden incelenmektedir.

2.2. Şalkon Bileşikleri İle İlgili Genel Bilgiler

Şalkonlar, 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısına sahip doğal veya sentetik bileşiklerdir. Flavonoit ailesinin bir üyesi olarak kabul edilen bu bileşikler, üç karbonlu bir α,β -doymamış karbonil sistemi ve uç karbonlara bağlı aromatik yapılardan oluşmaktadırlar. Şalkonların yapısında, bulunan halka sistemlerinden keton grubuna komşu olan halka A halkası, diğer halka yapısı ise B halkası olarak isimlendirilmektedir. Flavonoitlerden farklı olarak şalkonlarda 3. bir halka yapısı daha bulunmamaktadır. C halkası olarak adlandırılan bu halkanın yerine şalkonlarda 2-propenon yapısı yer almaktadır (Şekil 2.1) (Kimberly, 2012, Beyhan, 2011, Gezegen, 2006).

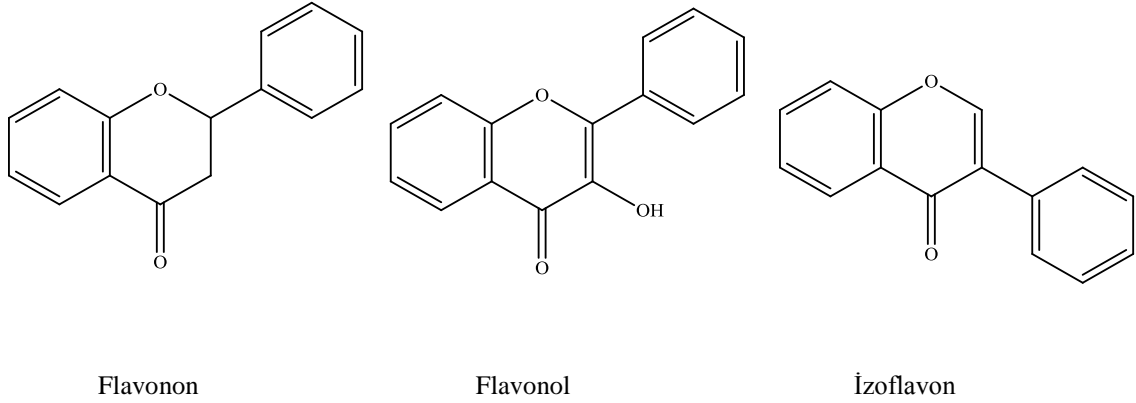


Şekil 2.1. Şalkon, Flavon ve Auron'un Kimyasal Yapıları

Kaynak: Kimberly, 2012, s. 342

Şalkonlar doğal olarak birçok meyve, sebze ve baharatta bulunmaktadır. Genel olarak bir çok bitki türünde bulunan şalkonların aromatik halkalarında hidroksillenme görülmektedir. Şalkonların sahip olduğu fenolik halkaların yüksek antioksidan aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Şalkonlar, auronlarla beraber birçok bitki türünde renk pigmentlerini oluşturmaktadırlar. Ayrıca flavonoit sentezinde, bitkilerde prekürsör olarak kullanılmaktadırlar (Beyhan, 2011, Evranos, 2010).

Flavonoitler, bitkisel kaynaklı gıdalardaki polifenolik bileşiklerin en bilinen grupları arasındadır. 1999'da 6500'ün üzerinde flavonoit tanımlanmıştır ve yeni yapılar hala bildirilmektedir. Zengin ve çeşitli iskelet yapılarına sahip alkaloid veya terpenoidlerin aksine, flavonoitler ancak sınırlı iskelet yapılarını oluştururlar (Şekil 2.2).



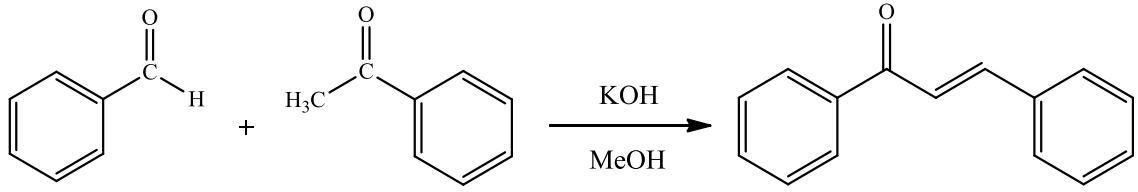
Şekil 2.2. *Flavonoit Türevlerinin Kimyasal Yapıları*

Kaynak: *Boumendjel, 2002, s. 515*

Beslenmenin tamamlayıcı unsuru olarak, flavonoitlerin farklı kanser formlarına ve kardiyovasküler hastalıklara karşı oldukça faydalı etkileri vardır (Boumendjel ve ark., 2012; Formica ve ark., 1995). Özellikle birçok flavonoit aromataz veya topoizomeras inhibisyonu vasıtasıyla antimitotik aktivite gibi antitümör aktivite göstermektedir (Boumendjel ve ark., 2012, Wang ve ark., 1998).

2.3. Şalkonların Sentez Yöntemleri

Şalkonlar sentetik olarak ilk kez kimyager J.G. Schmidt ve R.L. Claisen tarafından sentezlenmişlerdir. Şalkonlar, Claisen-Schmidt kondenzasyonu ile aromatik benzaldehit ve metil aril ketonların tepkimeye sokulmasıyla sentezlenmişlerdir. Bu reaksiyon genellikle KOH veya NaOH kullanılarak bazik ortamda metanol ya da etanol içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3) (Qian ve ark., 2010; Lee ve ark., 2010; Montes-Avila ve ark., 2009; Peppe ve ark., 2008; Marques ve ark., 2008; Basnet ve ark., 2007; Jahng ve ark., 2004; Solomons, 2002).

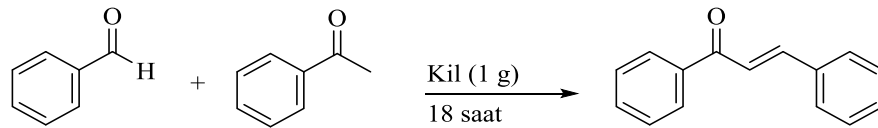


Şekil 2.3. Claisen-Schmidt Tepkimesi

Kaynak: Solomons, 2002, s. 783

Geleneksel Claisen-Schmidt kondenzasyonunun yanında, literatürde değişik katalizörler veya asidik ortamlar kullanılarak yapılan şalkon sentezleri de mevcuttur.

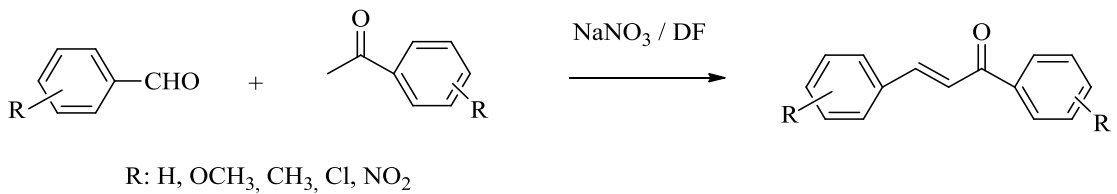
Ballini ve arkadaşları, aromatik aldehit ve ketonları; asidik, bazik ve nötral killi ortamlarda tepkimeye sokarak şalkon sentezlerini gerçekleştirmişlerdir. En yüksek şalkon verimi asidik killi ortamda oluşmuştur. Asidik kil olarak montmorillonit KSF tercih edilmiştir (Şekil 2.4) (Ballini, 2001).



Şekil 2.4. Killi Ortamda Şalkonların Sentezi

Kaynak: Ballini, 2001, s. 178

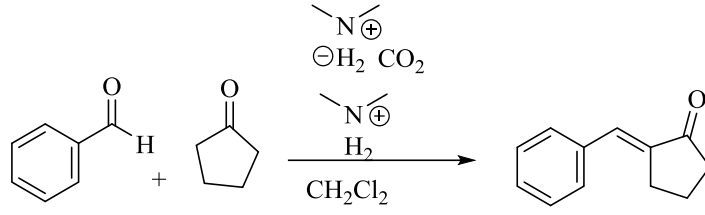
Doğal fosfat katkılı potasyum florür, güçlü bazik etkisi ile aromatik aldehit ve ketonların reaksiyona girmesini kolaylaştırarak şalkonlar elde edilmiştir (Şekil 2.5) (Macquarrie, 2002; Sebti, 2002; Sebti, 2001).



Şekil 2.5. Doğal Fosfat Katkılı Katalizörler İle Şalkonların Sentezi

Kaynak: Sebti, 2001, s. 7953

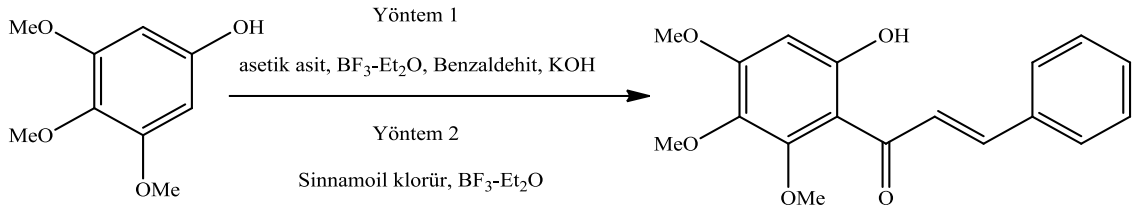
Kreher ve arkadaşları, 50 °C'de öncelikle dimetilamonyum dimetilkarbamat çözeltisini katalizör olarak hazırlamışlardır. Bunun üzerine keton ve aldehit bileşiklerini ekleyerek şalkon bileşiğini elde etmişlerdir (Şekil 2.6) (Kreher, 2003).



Şekil 2.6. Dimetilamonyum Dimetilkarbamat Katalizörlüğünde Şalkonların Sentezi

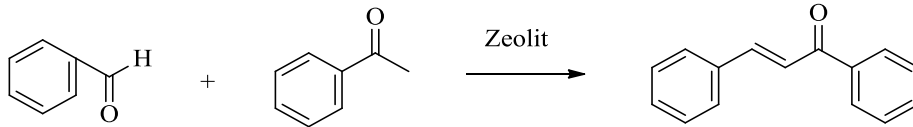
Kaynak: Kreher, 2003, s. 3107

Huang ve arkadaşları, trimetoksifenolü açılıyıp borontriflorür etarat ($\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$) ile asetik asitli ortamda tepkimeye sokmuşlar daha sonra benzaldehit ilavesi ve KOH katalizörlüğünde şalkonu oluşturmuşlardır. Aynı grup trimetoksifenol'ü sinnamoil klorür ile tepkimeye sokup aynı şalkonun sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.7) (Huang, 2003).



Şekil 2.7. Trimetoksifenol'den Hareketle Şalkon Sentezi

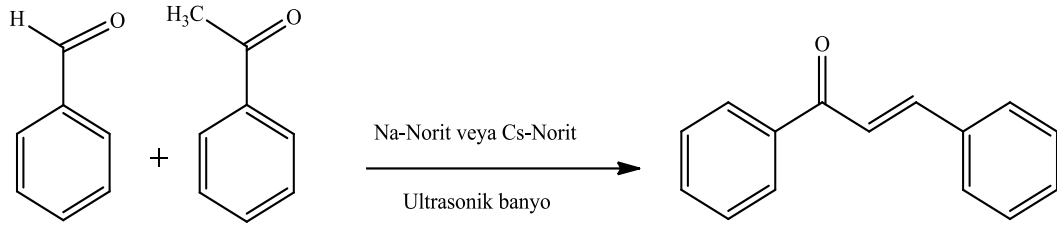
Perozo-Rondon ve arkadaşları, benzaldehit ve asetofenon türevlerini sıvı çözeltili olarak hazırladıktan sonra çözeltinin ultrasonik su banyosunda 343 K'de reaksiyona girmesini sağlamışlardır. Daha sonra ortama zeolit ilave etmişler ve ultrasonik banyoda reaksiyonu sürdürmüşlerdir (Şekil 2.8) (Perozo-Rondon, 2006).



Şekil 2.8. Zeolit Kullanılarak Şalkonların Sentezi

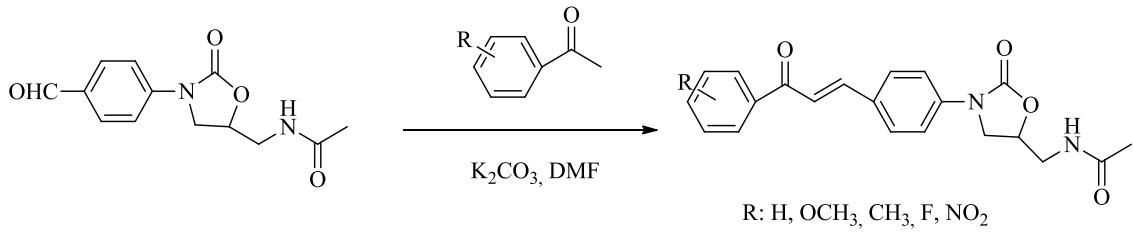
Kaynak: Perozo-Rondon, 2006, s. 184

Na-Norit ve Cs-Norit, aktifleştirilmiş karbonlardır. Çoğu kimyasal tepkimede katalizör olarak kullanımları mevcuttur. Aromatik aldehit ve ketonun etanol içinde çözünerek veya çözücüsüz ortamda Na-Norit veya Cs-Norit katalizörlüğünde ultrasonik su banyosunda reaksiyona girmesiyle şalkonlar elde edilebilmektedir (Şekil 2.9) (Perozo, 2006).



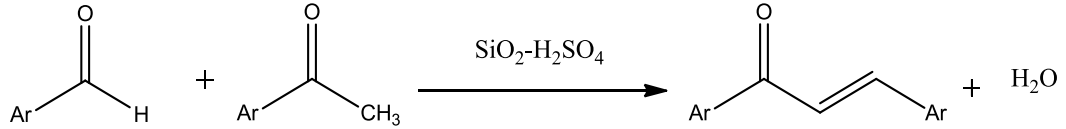
Şekil 2.9. *Na-/Cs-Norit Katalizörlüğünde Şalkon Sentezi*

Selvakumar ve arkadaşları, potasyum karbonat katalizörlüğünde dimetilformamit (DMF) çözücüsü içerisinde aromatik aldehit ve ketonu tepkimeye sokarak şalkon sentezini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.10) (Selvakumar, 2007).



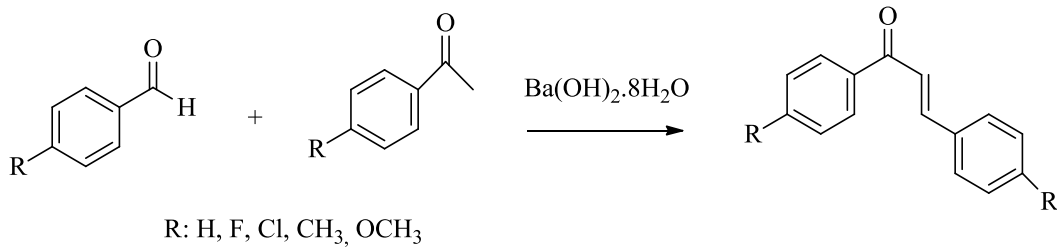
Şekil 2.10. *K₂CO₃/DMF Varlığında Şalkon Sentezi*

Silisyumdioksit/sülfürik asitli (SiO₂/H₂SO₄) ortamda aromatik aldehit ve ketonlar çözücüsü bulunmayan ortamda tepkimeye maruz bırakılıp 80 °C'lik fırında ısıtılarak şalkonlar elde edilmişlerdir (Şekil 2.11) (Thirunarayanan, 2007).



Şekil 2.11. *SiO₂/H₂SO₄ Varlığında Şalkon Sentezi*

Chimenti ve arkadaşları, Ba(OH)₂ oktahidrat katalizörlüğünde asetofenon ve benzaldehit türevlerini etanol içerisinde tepkimeye sokarak şalkon türevlerini elde etmişlerdir (Şekil 2.12) (Chimenti, 2008).

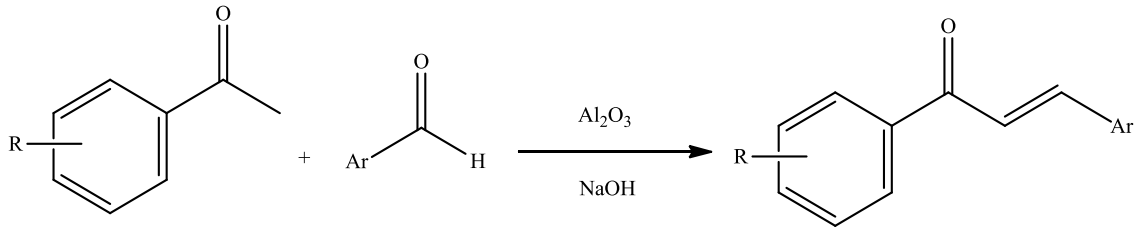


Şekil 2.12. *Ba(OH)₂.8H₂O Varlığında Şalkon Sentezi*

Kaynak: Chimenti, 2008, s. 2264

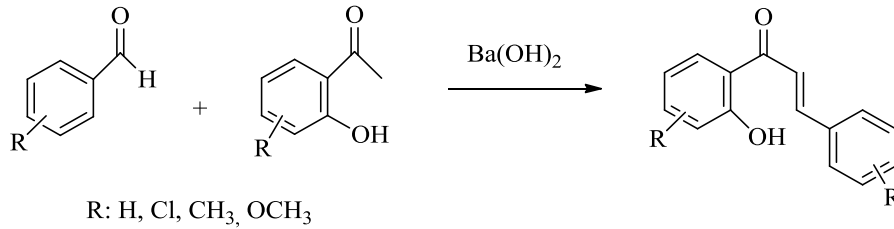
Petrov ve arkadaşları, sübstitüe aldehit ve ketonları etanol içerisinde çözüp SOCl_2 eklemiştir. Burada reaksiyon asidik katalizör (SOCl_2) kullanıldığı için aldol kondenzasyonu üzerinden yürümüş ve şalkonlar elde edilmiştir (Petrov, 2008).

Sarda ve arkadaşları, 4-hidroksiasetofenon, farklı aromatik aldehitler ve sodyum hidroksiti diklorometan ile çözüp nötür alüminyum oksit ekleyerek ortamdaki suyu almışlar ve içeriği 60°C 'de karıştırarak saf şalkonları elde etmişlerdir (Şekil 2.13) (Sarda, 2009).



Şekil 2.13. Alüminyum Oksit Katalizörlüğünde Şalkon Sentezi

Kamboj ve arkadaşları, susuz $\text{Ba}(\text{OH})_2$ katalizörlüğünde asetofenon ve benzaldehit türevlerini etanol içerisinde mikrodalga ile uyararak şalkon sentezini farklı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.14) (Kamboj, 2011).

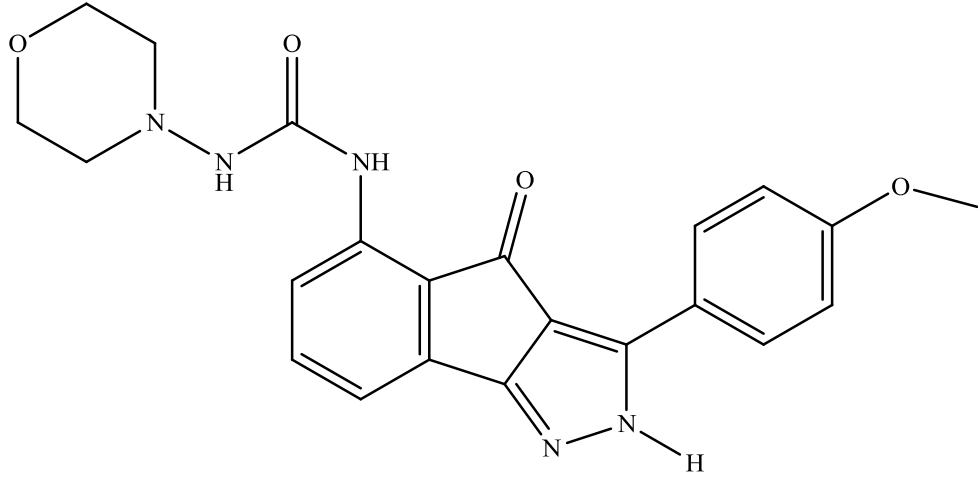


Şekil 2.14. $\text{Ba}(\text{OH})_2$ Katalizörlüğünde Mikrodalga İle Şalkon Sentezi

Kaynak: Kamboj, 2011, s. 905

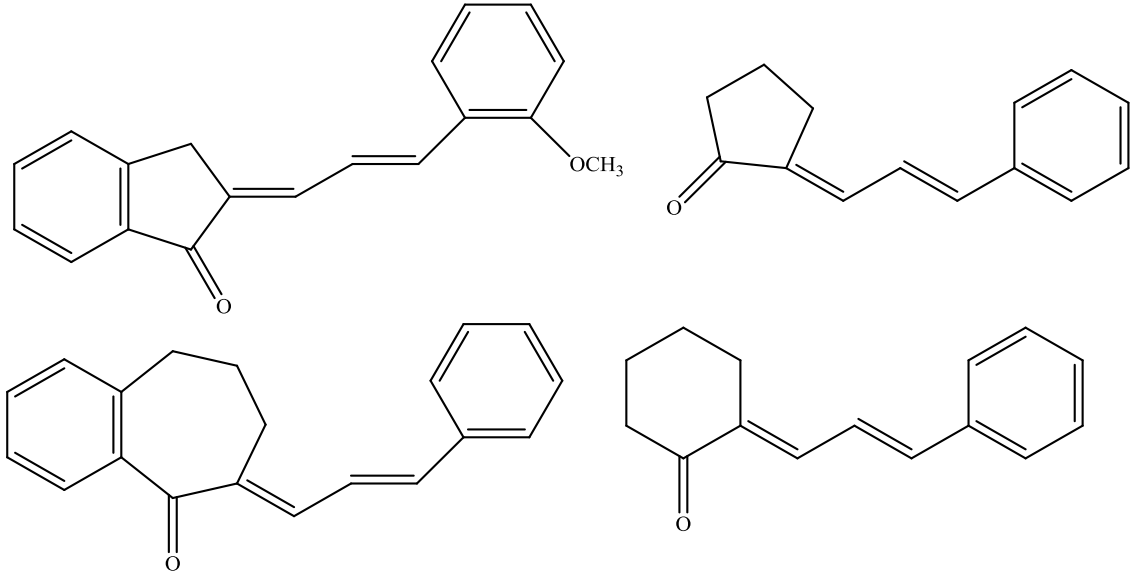
2.4. Sentezi Gerçekleştirilen Şalkon ve Bunların Biyoizosteri Auron Türevlerinin Antikanser Aktiviteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Nugiel ve arkadaşları, indenopirazol temelli sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörlerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu inhibitörlerden 1-[3-(4-metoksifenil)-4-okso-2,4-dihidroindeno[1,2-c]pirazol-5-il]-3-morfolinoüre bileşiğinin (Şekil 2.15) kolon kanseri hücre hattına (HCT116) karşı oldukça yüksek aktivitesi olduğunu gözlemlemişlerdir (Nugiel, 2002).



Şekil 2.15. 1-[3-(4-Metoksifenil)-4-okso-2,4-dihidroindeno[1,2-c]pirazol-5-il]-3-morfolino üre

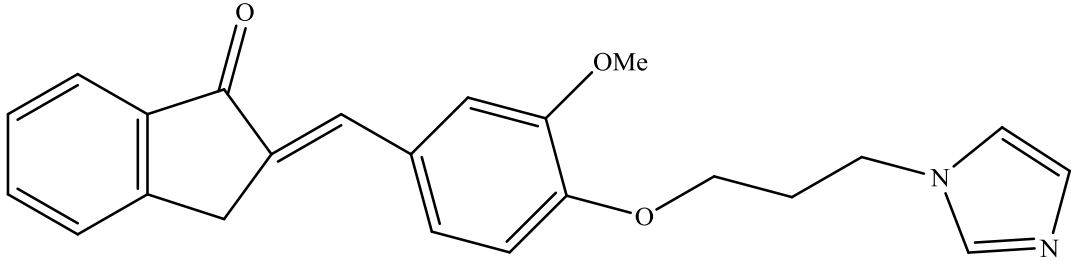
Engi ve arkadaşları, sinnamilidenbenzosikloalkanon ve sinnamilidensikloalkanon türevi bileşikleri sentezlemişler ve sentezledikleri bileşiklerin antiproliferatif etkilerini MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] metodunu kullanarak dirençli fare lenfoma (PAR) ve insan kolon kanseri (COLO320) hücre dizilerine karşı araştırmışlardır. Yapılan aktivite testleri sonucunda (Şekil 2.16)'deki bileşiklerin kanser hücrelerine karşı en yüksek etkinliğe sahip olduklarını gözlemlemişlerdir (Engi, 2006).



Şekil 2.16. Sinnamiliden Türevleri

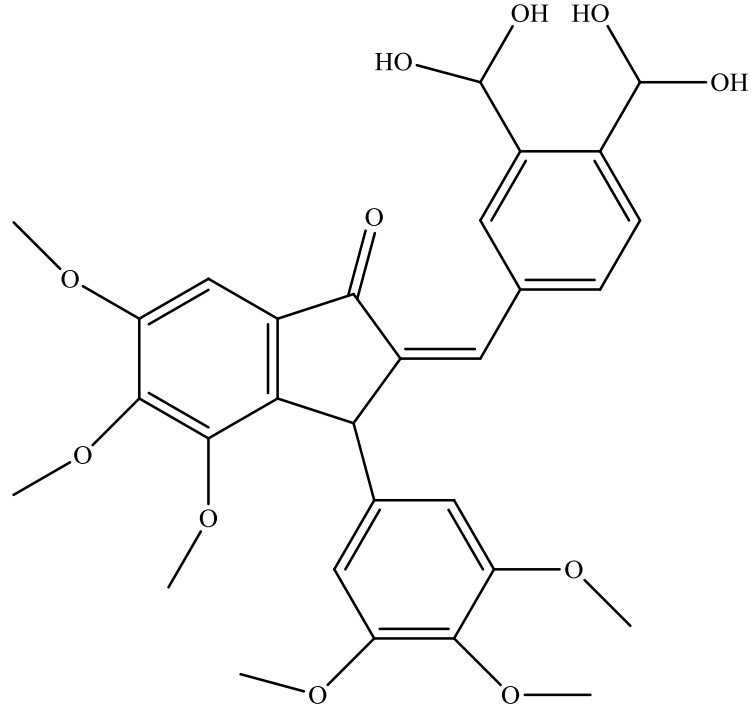
Bansal ve arkadaşları, bir seri yeni 2-benziliden indanon türevlerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu türevlerin aromataz inhibitör aktivitelerini incelemişlerdir. İmidazolil-sübstitüe indanonların güçlü aromataz inhibitör aktivite

gösterdiklerini gözlemlemişlerdir. Bu türevler arasındaki 2-[4-[3-(1*H*-imidazol-1-il)propoksi]-3-metoksibenzil]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on molekülünün (Şekil 2.17) referans madde olan aminoglutetimid'ten daha aktif olduğu gözlemlenmiştir (Bansal 2011).



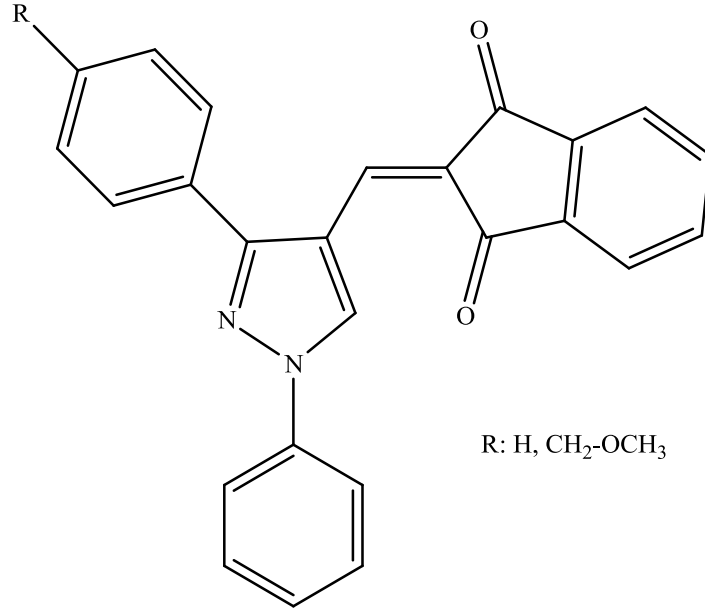
Şekil 2.17. 2-[4-[3-(1*H*-imidazol-1-il)propoksi]-3-metoksibenzil]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on

Prakasham ve arkadaşları, tübülün polimerizasyon inhibisyonu yüksek seçicilikte olan antikanser ajan için gallik asiti benziliden indanon türevlerine modifiye etmişlerdir. Bu bileşikleri bazı insan kanser hücre dizilerine ve aynı zamanda tübülün polimeraz inhibisyonlarına karşı *in vitro* olarak aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşiklerden 2-(3,4-Bis(dihidroksimetil)benziliden)-4,5,6-trimetoksi-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on bileşiğinin (Şekil 2.18) tübülün polimerizasyon inhibisyonu ($IC_{50}=0.63 \mu M$) ve MCF-7 hücre dizini üzerine ($IC_{50}=0.01 \mu M$) inhibisyon değeri ile en yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Prakasham, 2012).



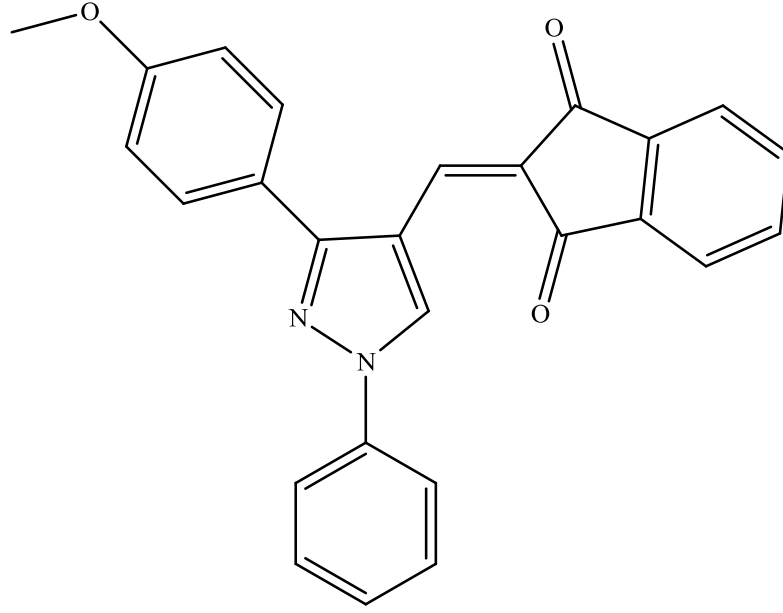
Şekil 2.18. 2-[3,4-Bis(dihidroksimetil)benziliden]-4,5,6-trimetoksi-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on

Mohamed ve arkadaşları, pirazol yapısı taşıyan şalkonları MCF-7 (meme kanseri), HCT-116 (kolon kanseri) ve HEPG2 (karaciğer kanseri) hücre dizileri üzerinde denemişlerdir. 2-((3-(Fenil/4-Metoksimetilfenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)metilen)-1H-inden-1,3(2H)-dion türevlerinin (Şekil 2.19) etkili sitotoksik aktiviteye sahip olduğu değerlendirilmiştir (Mohamed, 2012).



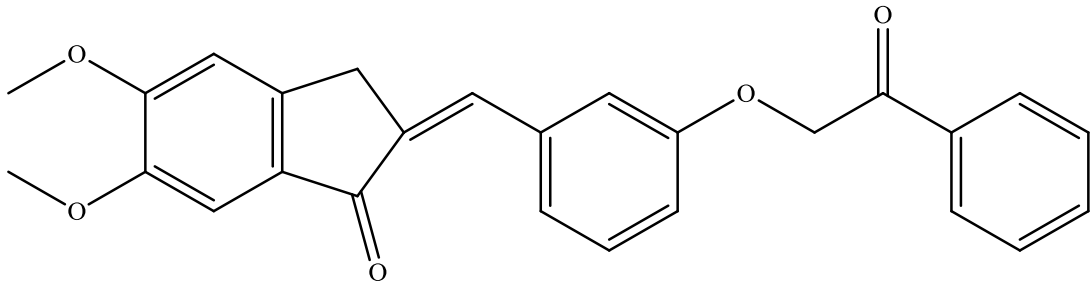
Şekil 2.19. 2-((3-(*Fenil*/4-*metoksimetilfenil*)-1-*fenil-1H-pirazol-4-il*)metilen)-1*H*-inden-1,3(2*H*)-dion

Magda ve arkadaşları, pirazol halkası içeren bir seri şalkon türevi sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu bileşiklerin MCF-7 (meme kanseri), HCT-116 (kolon kanseri) ve HEPG2 (karaciğer kanseri) hücre dizileri üzerine ve aynı zamanda HFB4 (normal melanosit hücresi) karşı hücre büyümesini inhibe edici aktivitelerini incelemişlerdir. İnceleme sonucunda 2-((3-(4-*metoksifenil*)-1-*fenil-1H-pirazol-4-il*)metilen)-1*H*-inden-1,3(2*H*)-dion molekülünün (Şekil 2.20) MCF-7 kanser hücre dizisi üzerine umut vadeden antikanser aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir (Magda, 2014).



Şekil 2.20. 2-((3-(4-Metoksifenil)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)metilen)-1H-inden-1,3(2H)-dion

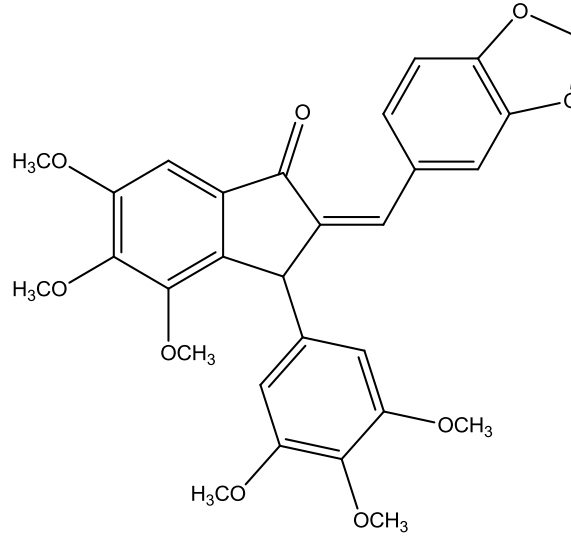
Gündoğdu-Karaburun ve arkadaşları, 2-[3- veya 4-(2-sübstitüe fenil-2-oksoetoksi)benziliden]-6-sübstitüe-2,3-dihidro-1H-inden-1-on türevlerini sentezlemişler ve antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin antikanser etki taramaları NCI tarafından 60 farklı insan tümör hücre dizinine karşı yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen 5,6-dimetoksi-2-(3-(2-okso-2-feniletoksi)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on bileşiğinin (Şekil 2.21) lösemi, prostat ve meme kanseri hücrelerine karşı seçici bir antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Gündoğdu-Karaburun, 2014).



Şekil 2.21. 5,6-Dimetoksi-2-(3-(2-okso-2-feniletoksi)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on

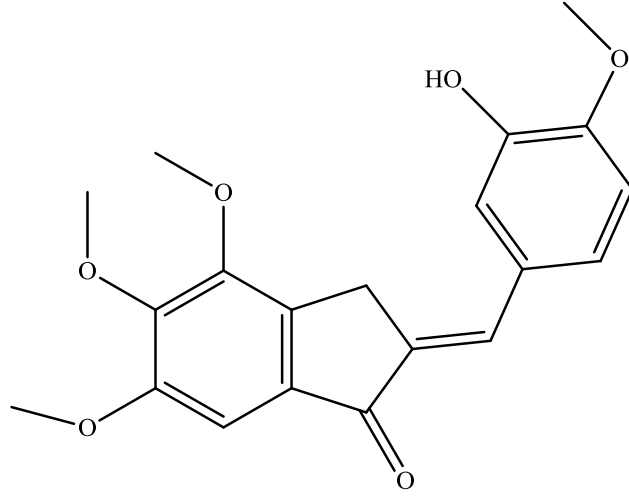
Singh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 2-(benzo[d][1,3]dioksol-5-ilmetilen)-4,5,6-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (Şekil 2.22) incelenmiştir. Bu bileşik çeşitli insan karsinoma hücrelerine karşı güçlü bir sitotoksik aktivite

göstermiştir. MDA-MB-231 (agresif insan meme kanseri) ve MCF-7 kanser hücre dizilerine G₂/M fazını inhibe ederek etki etmiştir. Ayrıca DU-145 (insan prostat kanseri) hücre dizilerinde poli ADP riboz polimeraz (PARP) yarılmasına sebep olarak apoptoza neden olmuştur. Erhlich asit karsinomunda 1.2 mg/kg dozda albino farelerde tümör büyümesini % 45.48 inhibe etmiştir (Singh, 2015).



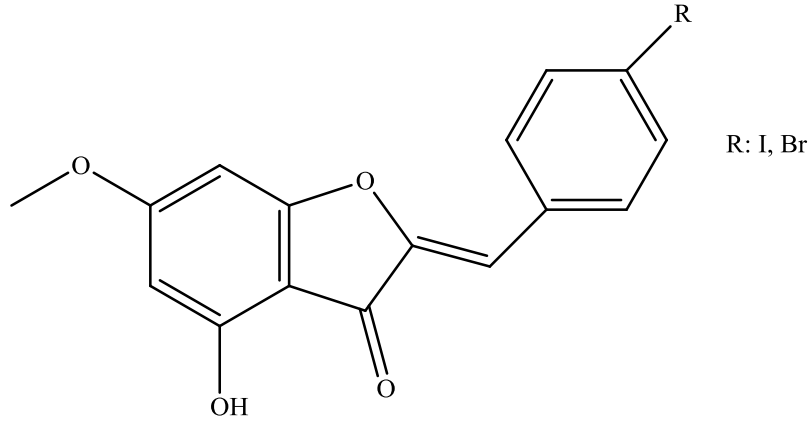
Şekil 2.22. 2-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-ylmetilen)-4,5,6-trimetoksifenil)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on

Hu ve arkadaşları, antitümör ajan olarak benzilidenindanon türevlerini tasarlayarak sentezlemişlerdir. Yapı-aktivite ilişkilerini değerlendirdiklerinde ise; indanon halkası üzerinde 4,5,6 numaralı konumlarda metoksi grubunun bulunmasının antiproliferatif etkiyi olumlu yönde etkilediğini göstermişlerdir. Yapılan aktivite çalışmaları sonucu özellikle 2-(3-hidroksi-4-metoksibenziliden)-4,5,6-trimetoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on molekülünün (Şekil 2.23) beş farklı kanser hücre dizisine karşı büyüme inhibisyon (GI₅₀) değerleri 0.172'den 0.570 µM'a kadar bulunmuş ve en aktif antikanser ajan olarak tespit edilmiştir (Hu, 2015).



Şekil 2.23. 2-(3-Hidroksi-4-metoksibenziliden)-4,5,6-trimetoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on

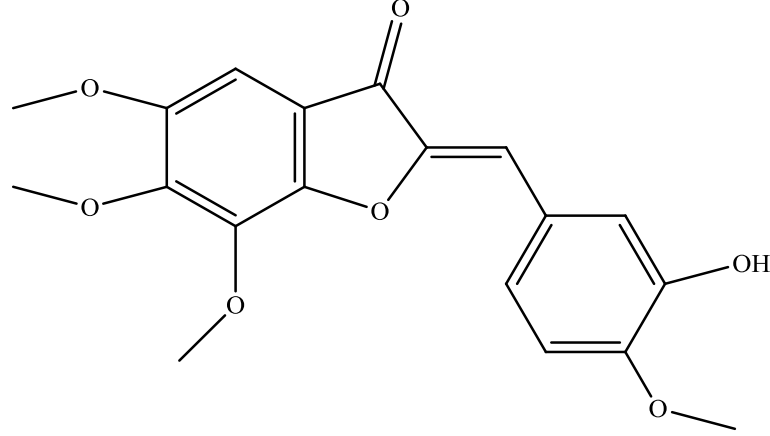
Boumendjel ve arkadaşları, 4-hidroksi-6-metoksi auronları ve 4,6-dimetoksi auronları sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu bileşiklerin taşıyıcı bir protein olan P-glikoprotein nükleotid bağlamasına yönelik afinitesi, kanser tedavisinde ilaca direnç gelişimi tedaviyi etkileyen önemli bir parametredir. 4'-Bromo-4-hidroksi-6-metoksiauron ve 4-hidroksi-4'-iyodo-6-metoksiauron bileşiklerinin (Şekil 2.24) kanser hücrelerine karşı bağlanma afinitelerini test etmişler ve bu iki bileşiğin en aktif bileşikler olduğunu gözlemlemişlerdir (Boumendjel, 2002).



Şekil 2.24. 4-Hidroksi-6-metoksiauron ve 4,6-Dimetoksiauron

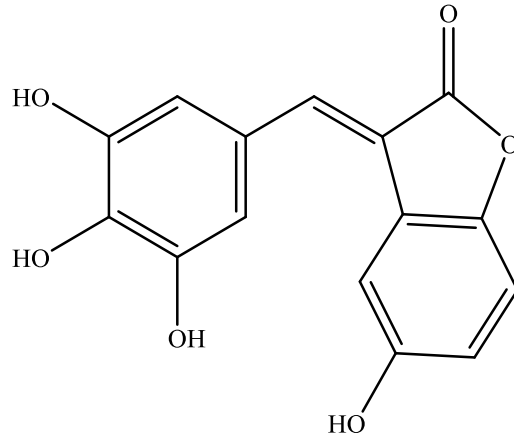
Lawrence ve arkadaşları, *Uvaria hamiltonii*'den izole ettikleri aron serisinin tübülün bağlama ajanı olarak antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan aktivite analizleri sonucunda 2-(3-hidroksi-4-metoksibenziliden)-5,6,7-trimetoksibenzofuran-3(2H)-on molekülü (Şekil 2.25) hücreyi G₂/M yaşam evresinde etkilemiştir. İzole edilen bu aron

bileşğinin K562 (Kronik Miyeloid Lösemi) hücre dizisine karşı etkili büyüme inhibisyon (GI_{50}) değeri $0.05 \mu M$ olarak bulunmuş ve en aktif antikanser ajan olarak tespit edilmiştir (Lawrence, 2003).



Şekil 2.25. 2-(3-Hidroksi-4-metoksibenziliden)-5,6,7-trimetoksibenzofuran-3(2H)-on

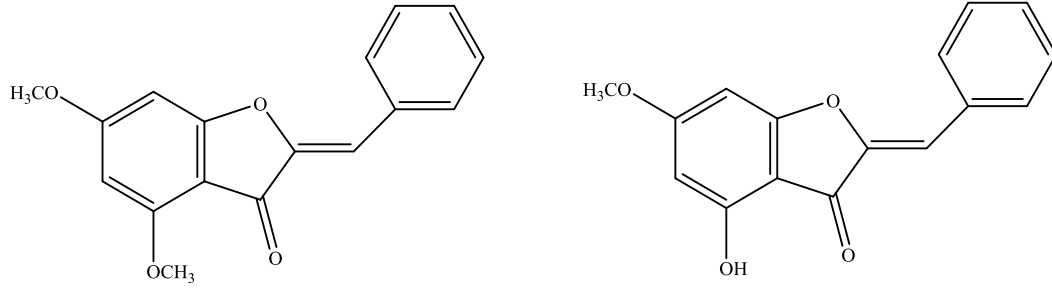
Suzuki ve arkadaşları, topoizomeraz I ve II'ye karşı *Termomonospora alba*'dan izole edilen izoaurostatin türevi bileşikler sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu bileşiklerden 5-hidroksi-3-(3,4,5-trihidroksibenziliden)benzofuran-2(3H)-on molekülünün (Şekil 2.26) kanser hücrelerine karşı en güçlü inhibisyona sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Suzuki, 2005).



Şekil 2.26. 5-Hidroksi-3-(3,4,5-trihidroksibenziliden)benzofuran-2(3H)-on

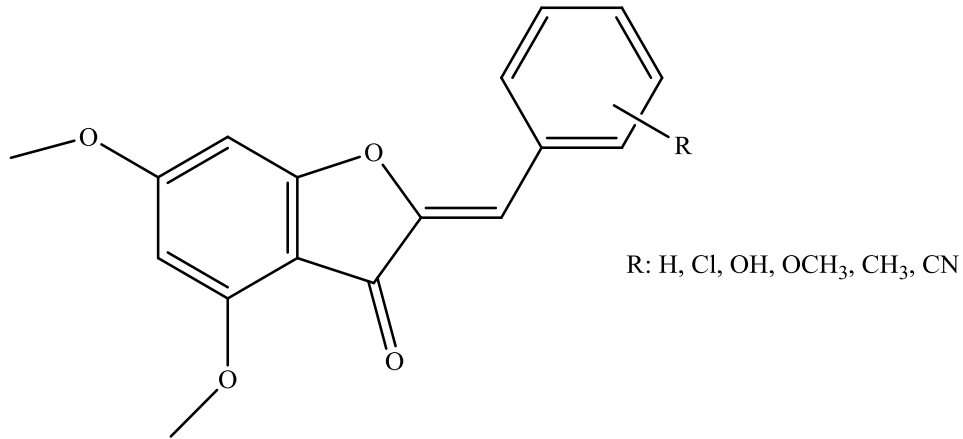
Vaclavikova ve arkadaşları, flavonoit türevi olan bazı auronları sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu bileşiklerden 4,6-dimetoksiauron yapısı taşıyan CB-284, CB-285 ve CB-287 kodlu türevler ile 4-hidroksi-4-metoksiauron yapısı taşıyan ML-50 kodlu türev (Şekil 2.27) P-glikoproteine duyarlı MDA-MB-435 ve Adrimisine dirençli NCI/ADR-

RES meme kanseri hücre hattına karşı yüksek aktivite göstermişlerdir (Vaclavikova 2006).



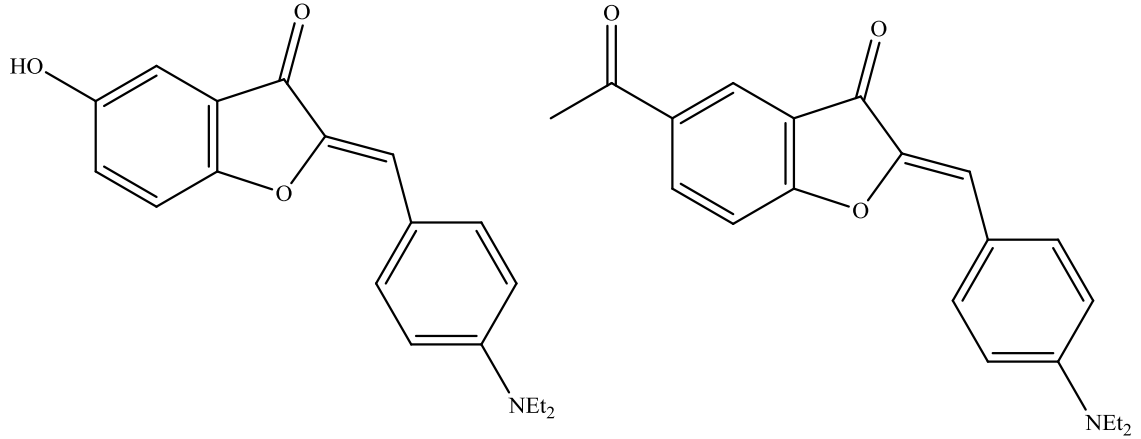
Şekil 2.27. 4,6-Dimetoksiauron ve 4-Hidroksi-4-metoksiauron Bileşikleri

Sim ve arkadaşları (2008), 4,6-dimetoksibenzofuran-3(2*H*)-on ve benzaldehit türevlerinin aldol tepkimesi sonucu 4,6-dimetoksiauron türevlerini (Şekil 2.28) sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu türevlerin ABCG2 (meme kanseri direnç proteini)'e karşı inhibisyon aktivitelerini *in vitro* olarak incelemişlerdir. Sonuç olarak 4,6-dimetoksiauron türevlerinin ABCG2 inhibitörü olarak iyi derecede aktivite gösterdiklerini gözlemlemişlerdir (Sim, 2008)



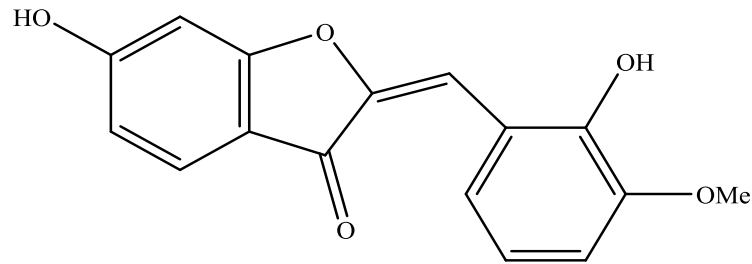
Şekil 2.28. 4,6-Dimetoksiauron Türevleri

Cheng ve arkadaşları, 4-süstitüe-5-hidroksiauron türevlerini sentezlemişlerdir. Bileşiklerin HUVEC (insan göbek ven endotelial hücresi) hücreleri ve kanser hücreleri olan A549 (Akciğer kanser hücresi) ile MCF-7 (İnsan meme kanser hücresi) hücre dizileri üzerinde antiproliferasyonu çalışılmıştır. Sentezledikleri 5-hidroksi-2-(4-dimetilaminobenziliden)benzofuran-3(2*H*)-on ve 5-asetoksi-2-(4-dimetilaminobenziliden)benzofuran-3(2*H*)-on moleküllerinin (Şekil 2.29) aktivitesinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Cheng, 2010).



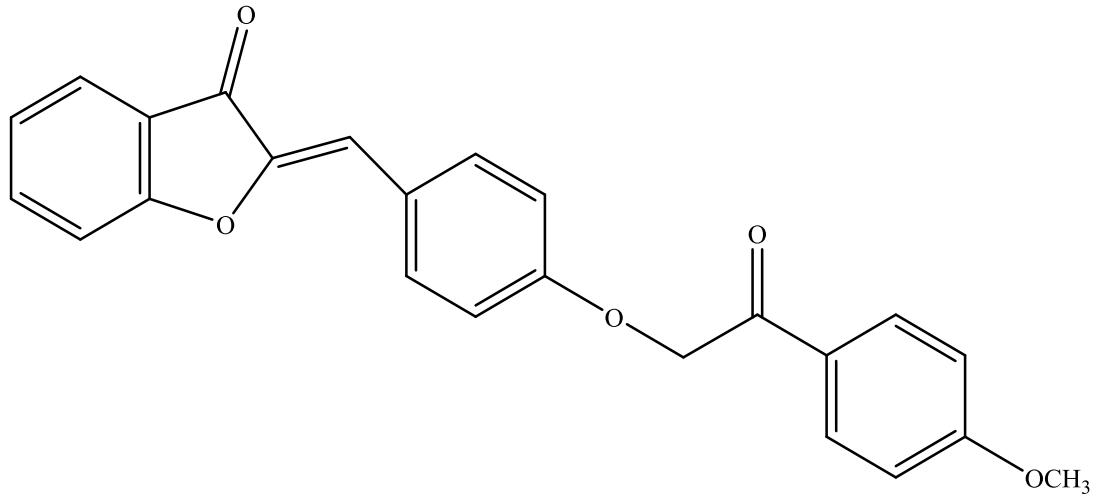
Şekil 2.29. 4-Sübstitüe-5-hidroksiauron Türevleri

Starcevic ve arkadaşları, estradiol hormonuna bağlı meme kanseri gelişimine neden olan 17 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz tip 1 (17 β -HSD1) inhibe etmek üzere bir seri bileşik sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu bileşiklerin 17 β -HSD1 inhibitör aktivitesine bakmışlardır. 6-Hidroksi-2-(2-hidroksi-3-metoksibenziliden)benzofuran-3(2H)-on bileşiğinin (Şekil 2.30) yüksek oranda güçlü 17 β -HSD1 inhibitör aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir (Starcevic, 2011).



Şekil 2.30. 6-Hidroksi-2-(2-hidroksi-3-metoksibenziliden)benzofuran-3(2H)-on

Demirayak ve arkadaşları, 2-[3- veya 4-(2-aril-2-oksoetoksi)ariliden]benzofuran-3-on türevlerini sentezlemişler ve antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin antikanser etki taramaları NCI tarafından 60 farklı insan tümör hücre dizinine karşı yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen 2-[4-[2-(4-metoksifenil)-2-oksoetoksi]benziliden]benzofuran-3-on molekülünün (Şekil 2.31) en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Demirayak, 2015).



Şekil 2.31. 2-[4-[2-(4-Metoksifenil)-2-oksoetoksi]benziliden]benzofuran-3-on

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -inden-1-on	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(Pirolidin-1-il)benzaldehit	: Alfa Aesar, Almanya
4-(Dimetilamino)benzaldehit	: Acros Organic, Amerika
4-(Dietilamino)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-Asetamidobenzaldehit	: Alfa Aesar, Almanya
4-(Piperidin-1-il)benzaldehit	: Maybridge, İngiltere
4-(4-Metilpiperazin-1-il)benzaldehit	: Maybridge, İngiltere
4-(1 <i>H</i> -İmidazol-1-il)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(4-Morfolino)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(1 <i>H</i> -1,2,4-Triazol-1-il)benzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-(2-Morfolinoetoksi)benzaldehit	: Maybridge, İngiltere
Sodyum hidroksit	: Merck, Almanya
Metanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etanol	: Tekel, Türkiye
Petrol eteri	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etil asetat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Dimetilsülfoksit- <i>d</i> ₆ (DMSO- <i>d</i> ₆)	: Sigma-Aldrich, Almanya
MTT	: Sigma, Almanya
CDCl ₃	: Sigma-Aldrich, Almanya
DMEM	: Sigma-Aldrich, Almanya
FBS	: Sigma-Aldrich, Almanya
PBS	: Sigma-Aldrich, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Manyetik karıştırıcı	: Heildolph, Almanya
Erime derecesi tayin cihazı	: Electrothermal 9100 Digital, İngiltere
¹ H-NMR spektrometresi	: Bruker AVANCE-DPX 400 ve 300 MHz, USA
¹³ C-NMR spektrometresi	: Bruker AVANCE-DPX 100 ve 75 MHz, USA
İnfrared spektrometresi	: Shimadzu, Japonya
Kütle spektrometresi	: Agilent, LC-MSD-Trap-S2, Japonya
HPLC	: LC-20A Prominence, Shimadzu, Japonya
Elemental analiz cihazı	: PerkinElmer, Norwalk, CT, USA

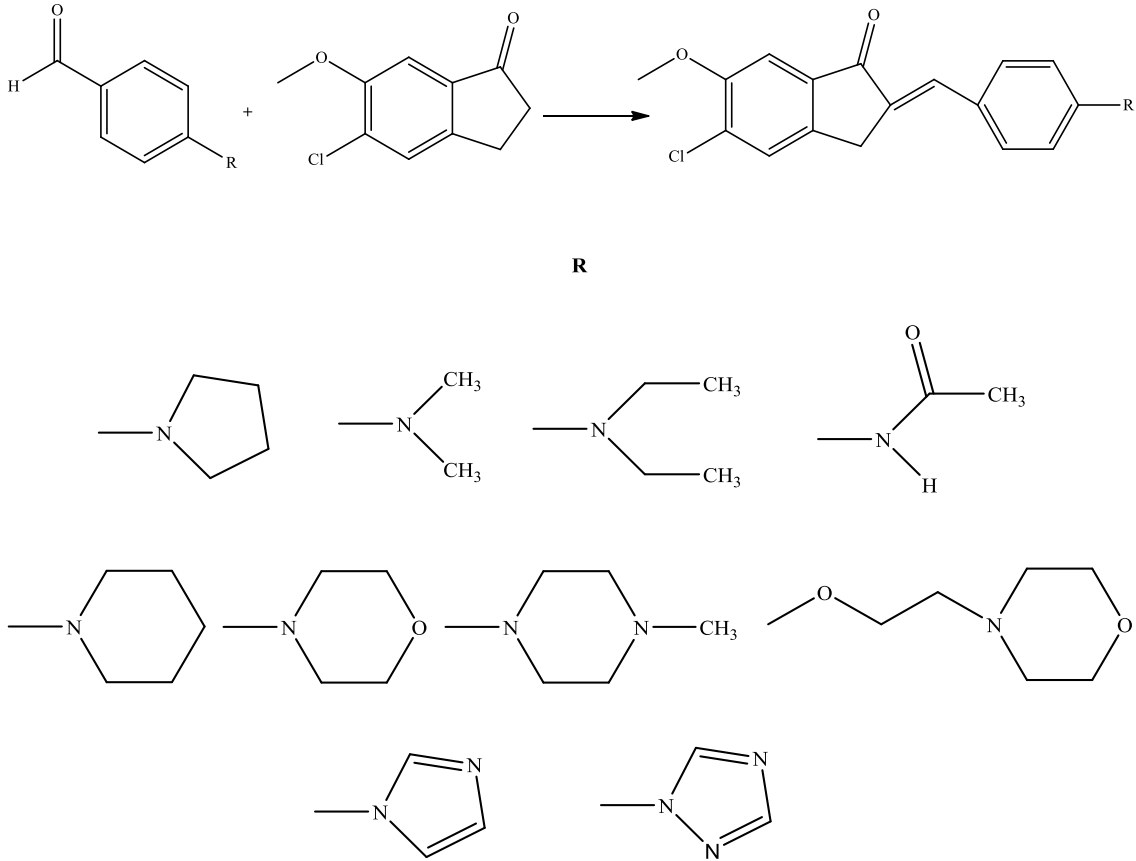
Maddelerin elemental analizleri ve ¹H- ve ¹³C-NMR spektrometresi ile spektrumlarının alınması, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Merkez Laboratuvarı'nda yaptırılmıştır.

HPLC, IR spektrumları ve kütle spektrumlarının alınması ise, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Doping Araştırma Merkezi ve Farmasötik Kimya Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

4. YÖNTEM

4.1. Yöntem A: 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1H-inden-1-on Türevlerinin Genel Sentezi

Eşit milimol miktarda 5-kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on ve *p*-süstitüe benzaldehyt türevleri oda sıcaklığında 20 mL metanol içerisinde çözülerek önceden hazırlanmış olan %50'lik (a/h) sodyum hidroksit çözeltisinden 2 mL ilave edilerek 7 gün boyunca manyetik tabanlı karıştırıcı kullanılarak karıştırılır. Tepkime İTK ile kontrollü bir şekilde bitirilir. Reaksiyon karışımı buzlu suda çöktürülerek çökelek oluşturulur ve süzülür. Çökelek yaklaşık pH 5 olana kadar saf su ile yıkanır. Elde edilen katı kurutulduktan sonra uygun bir çözücünden kristallendirilerek saflaştırılır (**Şekil 4.1**) (Montes-Avila ve ark., 2009; Lee ve ark., 2010).



Şekil 4.1. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1H-inden-1-on Türevlerinin Elde Edilmesi

Kaynak: Montes-Avila, 2009, s. 6781, Lee, 2010, s. 1689

4.2. Elde Edilen Bileşiklerin Analizi

4.2.1. Erime noktası (E.N.) tayini

Elde edilen bileşiklerin erime noktaları, bir ucu kapalı kılcal tüpler içerisinde erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. İşlem 3 kez tekrarlanmıştır.

4.2.2. C, H, N tayini

Elde edilen bileşiklerin C, H, N yüzdeleri, elementel analiz aleti kullanılarak saptanmıştır.

4.2.3. Infrared (IR) spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları, FT-IR spektrofotometresinde alınmıştır.

4.2.4. ¹H-Nükleer Manyetik Rezonans (¹H-NMR) spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, DMSO-*d*₆ veya CDCl₃ içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana (TMS) karşı 400 MHz'lik veya 300 MHz'lik NMR spektrometresinde alınmıştır.

4.2.5. ¹³C-Nükleer Manyetik Rezonans (¹³C-NMR) spektrumlarının alınması

Elde edilen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, DMSO-*d*₆ veya CDCl₃ içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana (TMS) karşı 400 MHz'lik veya 300 MHz'lik NMR spektrometresinde alınmıştır.

4.2.6. Kütle spektrumlarının alınması

Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometre (HRMS) analizleri Shimadzu hibrit LC-MS-IT-TOF sistemi ile metanol içinde çözelti haline getirildikten sonra elektrosprey iyonlaştırma (ESI) pozitif ve negatif modunda LCMS solution yazılımı kullanılarak alınmıştır.

4.2.7. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) spektrumlarının alınması

HPLC analizleri DGU-14A degazör, LC-20A çift pistonlu pompa, CTO-10 ASVP kolon firmı ve SPD-M20A PDA dedektörden oluşan Shimadzu LC-20A Prominence HPLC sisteminde yapılmıştır. Analizlerde Reodyne 7725i enjeksiyon valfi (Rheodyne Inc., Cotati, CA, USA) ve GL Sciences inertsil ODS-3 (Tokyo, Japan) 250 × 4.6 mm (boy x iç çap), partikül büyüklüğü 5 µm olan kolon kullanılmıştır. Mobil faz olarak izokratik sistemde asetonitril:su (95:5) kullanılarak 1.0 mL/dk akış hızında analiz yapılmıştır.

4.2.8. İnce tabaka kromatografisi (İTK) çalışmaları

Gerçekleştirilen sentezlerin evre ve süreleri İTK ile tespit edilmiştir. Kromatografi çalışmalarında adsorban olarak 0.2 mm kalınlığındaki 20x20 cm hazır silika jel plakları (Merck) ve çözücü sistemi olarak da petrol eteri-etil asetat (75:25, 50:50) kullanılmıştır. Kromatografi tankına 5 mL çözücü sistemi yerleştirilmiştir. Reaksiyon içeriğinden alınan örnekler veya son ürün ve başlangıç maddeleri, etanolde çözülüp seyreltik çözelti olarak plağa uygulanmıştır. Sürükleme işlemi bitince dalga boyu 254 nm olan UV ışık altında lekeler tespit edilmiştir.

4.3. Biyolojik Etki Testleri

Sentezlenen şalkon bileşiklerinin antikanser aktiviteleri üç aşamada test edilmiştir. Birinci aşamada bileşiklerin sitotoksik etkileri MTT metodu ile tespit edilmiştir. İkinci aşamada, bileşiklerin DNA sentez inhibisyon etkileri belirlenmiştir. Son aşamada, önemli sitotoksik etki gösteren bileşiklerin apoptotik etkileri belirlenmiştir.

4.3.1. Hücre kültürü yöntemi ile *in vitro* sitotoksik etki çalışmaları

4.3.1.1. MTT testi

Sonuç bileşiklerinin (1-10) MCF-7 (insan meme kanser hücre dizisi), HeLa (insan serviks kanseri hücre dizisi) ve NIH/3T3 (fare embriyonik fibroblast hücre dizileri) üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkileri bileşiklerin farklı dozları hazırlanarak MTT testi ile belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan olan hücre hatları sıvı azottan (-196 °C) çıkarılarak, santrifüj edildikten sonra, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), % 10 Fetal sığır serumu (FBS) ve 1 mL penisilin-streptomisin içeren besi ortamının içinde 37 °C'de, % 5 CO₂ içeren CO₂ inkübatöründe kültüre edilmişlerdir. Deney için yeterli sayıya ulaşan hücreler Thoma lamı ile sayılarak 96 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa 100 µL besiyeri içerisine 2×10³ hücre gelecek şekilde ekilmişlerdir. Her bir kuyuya 0.156-2500 µM konsantrasyon aralığında, 100 µL besiyeri içerisindeki bileşenler eklenerek 37 °C'de inkübe edilmişlerdir. 24 Saatlik inkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa 20 µL MTT boyası (5 mg/mL) ilave edilerek ve hücreler 37 °C'de 3 saat daha inkübe edilmişlerdir. Bu süre sonunda, hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılarak her bir kuyuya 200 µL DMSO eklenmiş ve 10 dakika inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonunda oluşan formazan kristallerinin DMSO içerisinde çözünmesiyle oluşturdukları renk şiddetleri ELx808-IU Bio-Tek plaka okuyucusunda 540 nm dalga boyu ile belirlenmiştir. Bileşen ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı %100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık

oranları % olarak ifade edilmiştir. Pozitif kontrol olarak cisplatin kullanılmış ve sonuçlar bu pozitif kontrole göre kıyaslanmıştır. Doz ve zaman aralığı, literatürdeki benzer türlerin çeşitli kanser hücre tiplerine karşı gösterdikleri sitotoksik konsantrasyonlara bağlı olarak belirlenmiştir. Çalışmaların sonuçlarının güvenilirliği açısından deneyler minimum üçer tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır (Özdemir, 2013).

4.3.2. DNA sentez inhibisyon deneyi

Hücre çoğalma deneyleri 96-kuyulu tabakalarda Bromodeoksiüridin (BrdU) kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MCF-7 ve HeLa hücreleri 37 °C de 24 saat inkübe edildikten sonra %0.25 tripsin/EDTA solüsyonu ile ortamdan toplanacak ve her bir kuyuya 1×10^3 hücre gelecek şekilde ekim yapılmıştır. DMSO içinde çözülen test maddeleri kuyulara farklı konsantrasyon aralıklarında eklenmiştir. Her konsantrasyon aralığı için üç kuyuya ekim yapılarak ölçüm sonrası bunların ortalamaları dikkate alınmıştır. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra, hücreler 37 °C de, 24 saatlik zaman aralıklarında inkübatörde tutulmuştur. Her bir zaman aralığının sonunda hücreler üzerine 10 µL BrdU solüsyonu ilave edilerek 37 °C de 2 saat daha inkübasyon gerçekleştirilmiştir ve bu sürenin sonunda fiks denat solüsyonu ile oda ısısında 30 dakika karıştırılan hücreler, 100 µL anti-BrdU çalışma solüsyonu ile 90 dakika oda ısısında bekletilmiştir. Hücreler, fosfat tuz tamponu (PBS) ile 3 kez yıkanarak fotometrik ölçüm için renk değişimi gözleninceye kadar substrat solüsyonu içine alınarak ve örneklerin absorbanları 492 nm de Elisa spektrometre ile ölçülmüştür.

4.3.3. Apoptotik etki çalışmaları

4.3.3.1. Anneksin V FITC: erken faz apoptozun belirlenmesi

MTT metodu ile en aktif bileşikler belirlendikten sonra, IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı olarak MCF-7 ve HeLa hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri flow sitometrede BD, Pharmingen Flow sitometri kiti ile üretici firmanın önerilerine göre belirlenmiştir. Özetle, hücreler, 800 rpm de 4 dakika santrifüj edildikten sonra $1 \times$ PBS, ile 2 kez yıkanacaklar ve $2-3 \times 10^6$ hücre/mL de olacak şekilde $1 \times$ Anneksin-V bağlanma çözeltisinde süspanse edildikten sonra hücre solüsyonundan 100 µL alınarak tüplere aktarılmıştır. Daha sonra her bir tüpe, 5 µL Anneksin-V FITC ve 10 µL propidyum iyodür çözeltisi eklenerek, oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildikten sonra her bir tüpe $400 \mu\text{L} \times$ Anneksin-V bağlanma çözeltisi ilave edilmiş ve hücreler 1 saatlik boyama süresi içerisinde akım

sitometrisi (BD FACSCalibur™) ile analiz edilmiştir. Erken ve geç apoptotik hücre miktarı pozitif kontrole göre hesaplanmıştır.

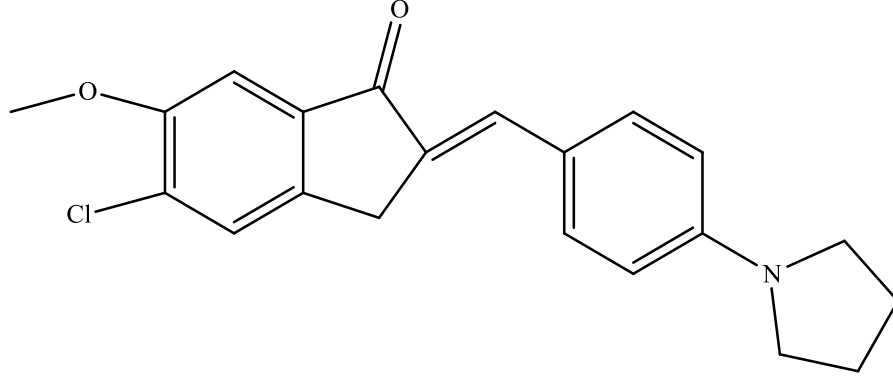
4.3.3.2. Kaspaz-3 aktivitesinin akım sitometri ile belirlenmesi

MTT metodu ile en aktif bileşikler belirlendikten sonra, IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı olarak HeLa hücreleri üzerindeki Kaspaz 3 aktiviteleri flow sitometrede BD, Pharmingen Flow sitometri kiti ile üretici firmanın önerilerine göre belirlenmiştir. Özetle, hücreler belirlenen doz ve zamanda maddeler ile inkübe edilmiştir. Soğuk 1 X PBS ile iki kez hücreler yıkanmıştır. Daha sonra bu hücreler BD Cytotfix/Cytoperm solüsyonu ile süspande edilmiştir (1x10⁶ hücre/0.5 mL olacak şekilde) ve 20 dk. buz üzerinde bekletilmiştir. Santrifüj edildikten sonra hücreler, BD Cytotfix/Cytoperm solüsyonu atılmıştır. Hücreler iki kez BD Perm/Wash™ buffer ile (1x10⁶ hücre/ 0.5 mL) yıkanmıştır. Daha sonra Hücreler yeniden BD Perm/Wash™ buffer ve antikor ile süspande edilmiş ve 30 dk. oda ısısında bekletilmiştir. Her bir test için 1 mL BD Perm/Wash™ buffer içinde yıkanmış ve 0.5 mL BD Perm/Wash™ buffer içinde süspande edilerek akım sitometri ile analiz edilmiştir. Pozitif kontrol olarak cisplatin kullanılmış ve sonuçlar bu pozitif kontrole göre kıyaslanmıştır.

5. BULGULAR ve TARTIŞMA

5.1. Sentez Çalışmaları

5.1.1. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(pirolidin-1-il)benziliden]-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (1)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(pirolidin-1-il)benzaldehit (2.54 mmol, 0.45 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %72 E.N. : 257 °C HPLC : %70

Elementel Analiz : C₂₁H₂₀ClNO₂ (M.A.= 353.85)

Hesaplanan : C : % 71.28 H : % 5.70 N : % 3.96

Bulunan : C : % 71.32 H : % 5.73 N : % 3.89

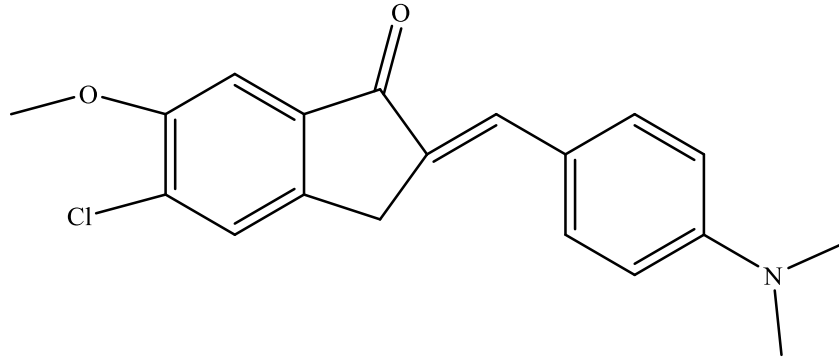
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3093.82, 3055.24 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2974.23, 2945.30, 2897.07, 2852.72 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1683.86 (C=O gerilim bandı), 1587.42, 1570.06, 1521.84, 1481.33, 1417.68 (C=C gerilim bandları), 1388.75, 1350.17, 1313.52, 1284.59, 1253.73, 1188.15, 1174.65, 1151.50, 1128.36, 1105.21, 1045.42 (C-N ve C-O gerilim bandları), 991.41, 962.48, 918.12, 862.18, 806.25, 792.74, 763.81, 738.74 (1,4-disüstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 2.03-2.08 (4H, m, pirolidin C_{3,4}-H), 3.36-3.40 (4H, m, pirolidin C_{2,5}-H), 3.90 (2H, brs, inden C₃-2H), 3.98 (3H, s, OCH₃), 6.60 (2H, d, *J* = 8.85 Hz, fenil), 7.40 (1H, s, inden C₂ = C-H), 7.55-7.59 (3H, m, fenil C₇-H, fenil), 7.64 (1H, brs, fenil C₄-H).

^{13}C -NMR (75 MHz) (CDCl_3) δ (ppm): 24.90 (pirolidin $\text{C}_{3(4)}\text{-CH}_2$), 25.46 (pirolidin $\text{C}_{4(3)}\text{-CH}_2$), 31.88 (indenon $\text{C}_3\text{-CH}_2$), 47.55 (pirolidin $\text{C}_{2,5}\text{-2CH}_2$), 56.47 (OCH_3 , fenil), 105.74 (fenil $\text{C}_7\text{-CH}$), 111.91 (fenil-2CH), 122.40 (fenil-C), 127.43 (fenil-CH), 129.10 (inden $\text{C}_2\text{-C}$), 129.20 (fenil-C), 133.09 (fenil-2CH), 135.84 (inden $\text{C}_2 = \text{C-H}$), 138.51 (fenil-C), 142.06 (fenil-C), 148.90 (fenil-C), 154.90 (fenil-C), 193.21 (indanon $\text{C}_1\text{-C=O}$).

MS (ESI) (m/z): (M^+) 354.1255, (M^++1) 355.1270, (M^++2) 356.1227, (M^++3) 357.1258

5.1.2. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(dimetilamino)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(dimetilamino)benzaldehit (2.54 mmol, 0.38 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %84.20

E.N. : 223 °C

HPLC : %100

Elementel Analiz : $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClNO}_2$ (M.A.= 327.80)

Hesaplanan

: C : % 69.62

H : % 5.53

N : % 4.27

Bulunan

: C : % 69.58

H : % 5.50

N : % 4.29

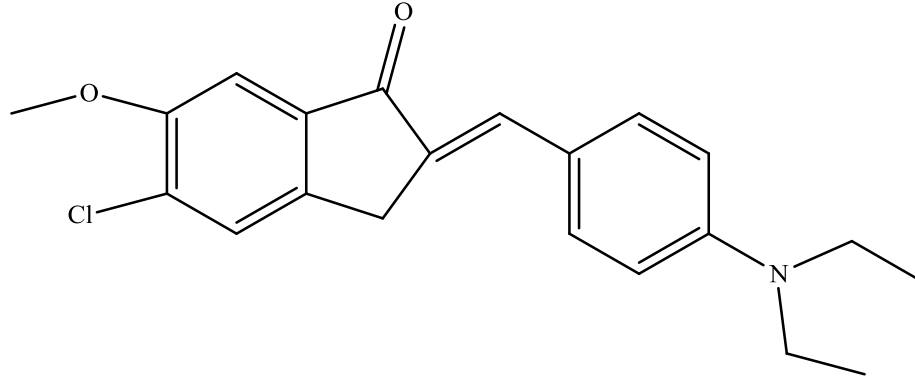
IR ν_{max} (cm^{-1}): 3097.68 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2970.38, 2885.51, 2812.21 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1676.14 (C=O gerilim bandı), 1583.56, 1568.13, 1519.91, 1479.40, 1460.11, 1435.04 (C=C gerilim bandları), 1361.74, 1315.45, 1288.45, 1253.73, 1170.79, 1153.43, 1122.57, 1105.21, 1043.49 (C-N ve C-O gerilim bandları), 991.41, 937.40, 920.05, 871.82, 852.54, 792.74, 769.60, 752.24, 715.59 (1,4-disüstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) ($\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 3.29 (6H, s, $\text{CH}_3\text{-N-CH}_3$), 3.89 (2H, s, inden $\text{C}_3\text{-CH}_2$), 3.93 (3H, s, OCH_3), 6.77 (2H, d, $J= 9.20$ Hz, fenil), 7.34 (1H, s, inden $\text{C}_2=\text{C-H}$), 7.43 (1H, brs, fenil $\text{C}_7\text{-H}$), 7.57 (2H, d, $J= 8.40$ Hz, fenil), 7.70 (1H, s, fenil $\text{C}_4\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz) (CDCl_3) δ (ppm): 31.80 (indenon $\text{C}_3\text{-CH}_2$), 40.06 (2CH_3 , $\text{H}_3\text{C-N-CH}_3$), 56.45 (OCH_3 , fenil), 105.74 (fenil $\text{C}_7\text{-CH}$), 111.92 (fenil- 2CH), 122.94 (fenil- C), 127.45 (fenil- CH), 129.24 (fenil- C), 129.80 (inden $\text{C}_2\text{-C}$), 132.86 (fenil- 2CH), 135.43 (inden $\text{C}_2=\text{C-H}$), 138.38 (fenil- C), 142.08 (fenil- C), 151.26 (fenil- C), 154.92 (fenil- C), 193.24 (indanon $\text{C}_1\text{-C=O}$).

$\text{MS (ESI) (}m/z\text{)}$: (M^+) 328.1103, (M^++1) 329.1115, (M^++2) 330.1069, (M^++3) 331.1086

5.1.3. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(dietilamino)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (3)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(dietilamino)benzalhit (2.54 mmol 0.45 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %70 E.N. : 184 °C HPLC : %100

Elementel Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClNO}_2$ (M.A.= 355.86)

Hesaplanan : C : % 70.88 H : % 6.23 N : % 3.94

Bulunan : C : % 70.89 H : % 6.24 N : % 3.92

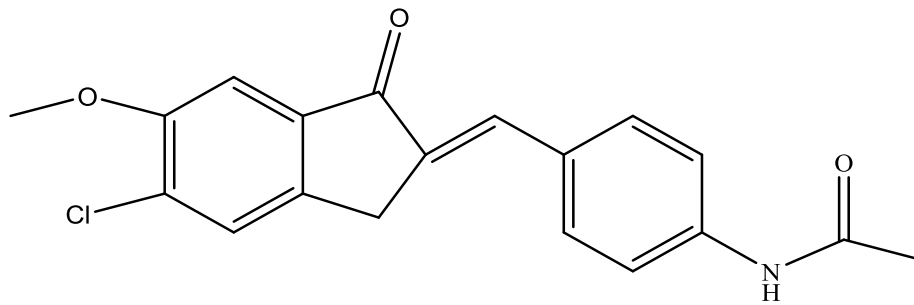
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3061.03 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2972.31, 2926.01, 2897.08 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1674.21 (C=O gerilim bandı), 1583.56, 1571.99, 1516.05, 1479.40 (C=C gerilim bandları), 1398.39, 1357.89, 1315.45, 1290.38, 1269.16, 1253.73, 1190.08, 1147.65, 1105.21, 1076.28, 1047.35, 1010.70 (C-N ve C-O gerilim bandları), 993.34, 939.33, 918.12, 862.18, 810.10, 790.81, 769.60, 746.45, 702.09 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 1.13 (6H, t, *J*= 6.40, 7.20, 13.60 Hz, CH₃-CH₂-N-CH₂-CH₃), 3.41 (4H, q, *J*= 6.80, 7.20, 14.00, 21.20 Hz, CH₃-CH₂-N-CH₂-CH₃), 3.89 (2H, s, inden C₃-CH₂), 3.94 (3H, s, OCH₃), 6.74 (2H, d, *J*= 8.80 Hz, fenil), 7.34 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.42 (1H, brs, fenil C₇-H), 7.55 (2H, d, *J*= 9.20 Hz, fenil), 7.70 (1H, s, fenil C₄-H).

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12.31 (CH₃-CH₂-N-CH₂-CH₃), 31.15 (indenon C₃-CH₂), 43.66 (CH₃-CH₂-N-CH₂-CH₃), 56.26 (OCH₃, fenil), 105.45 (fenil C₇-CH), 111.31 (fenil-2CH), 121.25 (fenil-C), 127.47 (fenil-CH), 127.69 (fenil-C), 128.93 (inden C₂-C), 132.92 (fenil-2CH), 134.31 (inden C₂=C-H), 137.88 (fenil-C), 142.00 (fenil-C), 148.70 (fenil-C), 154.28 (fenil-C), 191.53 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M⁺) 356.1406, (M⁺+1) 357.1439, (M⁺+2) 358.1382, (M⁺+3) 359.141

5.1.4. N-[4-[(5-Kloro-6-metoksi-1-okso-1,3-dihidro-2H-inden-2-iliden)metil]fenil]asetamit (4)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve N-(4-formilfenil)asetamit (2.54 mmol 0.42 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %92

E.N. : 292 °C

HPLC : %83

Elementel Analiz : C₁₉H₁₆ClNO₃ (M.A.= 341.79)

Hesaplanan

: C : % 66.77

H : % 4.72

N : % 4.10

Bulunan

: C : % 66.86

H : % 4.79

N : % 4.02

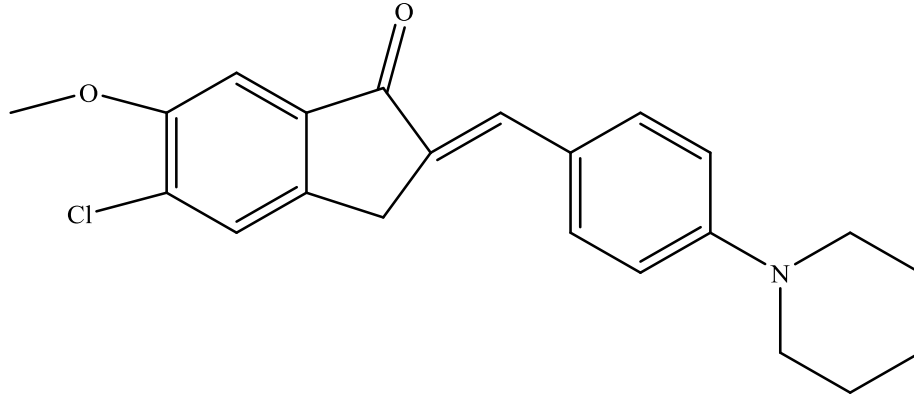
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3300.20 (Amit N-H gerilim bandı), 3068.75 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2947.23, 2899.01 (Alifatik C-H gerilim bandı), 1687.71 (C=O gerilim bandı), 1676.14 (Amit C=O gerilim bandı), 1622.13, 1591.27, 1537.27 (C=C gerilim bandları), 1411.89, 1176.58, 1047.35 (C-N ve C-O gerilim bandları), 862.18, 831.32, 790.81, 740.67, 700.16 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.09 (3H, s, CH₃), 3.94 (3H, s, OCH₃), 3.97 (2H, brs, inden C₃-CH₂), 7.37 (1H, s, inden C₂ = C-H), 7.45-7.46 (1H, m, fenil C₇-H), 7.67-7.73 (5H, m, fenil), 10.15 (1H, s, N-H).

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 23.98 (CH₃), 30.96 (indenon C₃-CH₂), 56.34 (OCH₃, fenil), 105.69 (fenil C₇-CH), 118.90 (fenil-2CH), 127.64 (fenil-CH), 128.56 (fenil-C), 129.23 (inden C₂-C), 131.59 (fenil-2CH), 132.86 (inden C₂ = C-H), 133.24 (fenil-C), 137.16 (fenil-C), 140.83 (fenil-C), 142.58 (fenil-C), 154.41 (fenil-C), 168.56 (amit C=O), 192.04 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M⁺) 342.0883, (M⁺+1) 343.0906, (M⁺+2) 344.0854, (M⁺+3) 345.0900

5.1.5. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(piperidin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (5)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(piperidin-1-il)benzaldehit (2.54 mmol, 0.48 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %91.10

E.N. : 210 °C

HPLC : %100

Elementel Analiz : C₂₂H₂₂ClNO₂ (M.A.= 367.87)

Hesaplanan

: C : % 71.83

H : % 6.03

N : % 3.81

Bulunan

: C : % 71.88

H : % 6.01

N : % 3.80

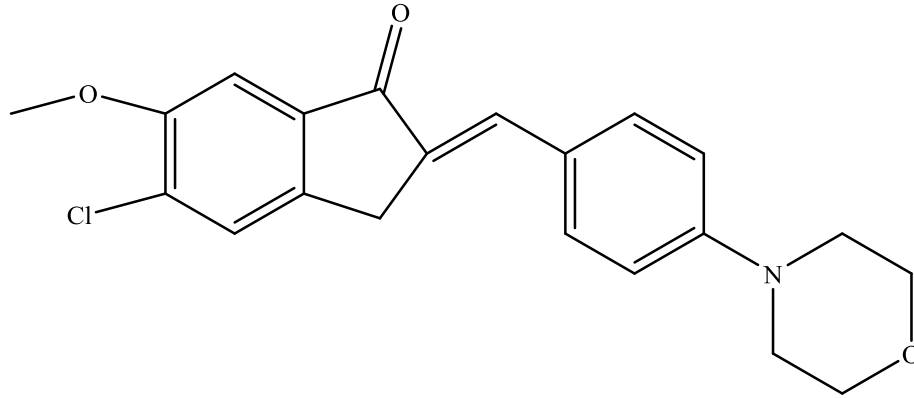
IR ν_{\max} (cm^{-1}): 3095.75 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2962.66, 2931.80, 2806.43 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1683.86 (C=O gerilim bandı), 1587.42, 1573.91, 1514.12, 1481.33, 1462.04 (C=C gerilim bandları), 1406.11, 1373.32, 1357.89, 1313.52, 1286.52, 1238.30, 1192.01, 1153.43, 1120.64, 1103.28, 1045.42 (C-N ve C-O gerilim bandları), 989.48, 916.19, 862.18, 812.03, 792.74, 765.74, 748.38, 713.66 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 1.58 (6H, brs, piperidin $\text{C}_{3,4,5}\text{-CH}_2$), 3.32 (4H, brs, piperidin $\text{C}_{2,6}\text{-CH}_2$), 3.92 (5H, s, inden $\text{C}_3\text{-CH}_2$, OCH_3), 6.98 (2H, d, $J = 8.80$ Hz, fenil), 7.35 (1H, s, inden $\text{C}_2 = \text{C-H}$), 7.42 (1H, brs, fenil $\text{C}_7\text{-H}$), 7.57 (2H, d, $J = 9.20$ Hz, fenil), 7.72 (1H, s, fenil $\text{C}_4\text{-H}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz) (DMSO- d_6) δ (ppm): 23.80 (piperidin $\text{C}_4\text{-CH}_2$), 24.78 (piperidin $\text{C}_{3,5}\text{-2CH}_2$), 31.10 (indenon $\text{C}_3\text{-CH}_2$), 47.86 (piperidin $\text{C}_{2,6}\text{-2CH}_2$), 56.32 (OCH_3 , fenil), 105.57 (fenil $\text{C}_7\text{-CH}$), 114.18 (fenil-2CH), 123.35 (fenil-C), 127.58 (fenil-CH), 127.96 (inden $\text{C}_2\text{-C}$), 130.26 (fenil-C), 132.53 (fenil-2CH), 133.84 (inden $\text{C}_2 = \text{C-H}$), 137.67 (fenil-C), 142.21 (fenil-C), 151.75 (fenil-C), 154.34 (fenil-C), 191.74 (indanon $\text{C}_1\text{-C=O}$).

MS (ESI) (m/z): (M^+) 368.1402, (M^++1) 369.1439, (M^++2) 370.1382, (M^++3) 371.1422

5.1.6. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-morfolinobenziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (6)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-morfolinobenzaldehyt (2.54 mmol, 0.49 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %87.40	E.N. : 197 °C	HPLC : %100
Elementel Analiz : $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{ClNO}_3$ (M.A.= 369.84)		
Hesaplanan : C : % 68.20	H : % 5.45	N : % 3.79
Bulunan : C : % 68.19	H : % 5.45	N : % 3.82

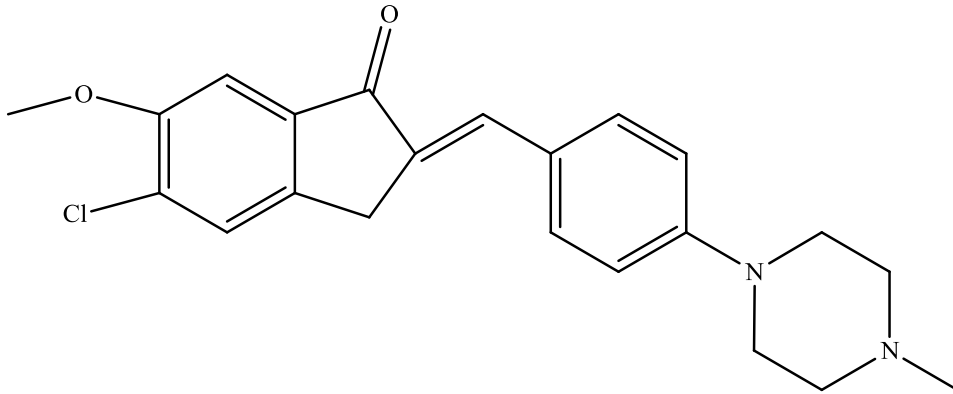
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3068.75 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2970.38, 2900.94, 2841.15 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1683.86 (C=O gerilim bandı), 1622.13, 1595.13, 1575.84, 1514.12, 1481.33, 1462.04 (C=C gerilim bandları), 1408.04, 1382.96, 1288.45, 1240.23, 1192.01 1153.43, 1124.50, 1101.35, 1047.35 (C-N ve C-O gerilim bandları), 991.41, 925.83, 862.18, 815.89, 790.81, 765.74, 752.24, 719.45 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 3.30 (4H, t, $J= 4.80, 4.98, 9.78$ Hz, CH₂-N-CH₂), 3.89 (4H, t, $J= 4.74, 4.98, 9.72$ Hz, CH₂-O-CH₂), 3.93 (2H, brs, inden C₃-2H), 3.98 (3H, s, OCH₃), 6.95 (2H, d, $J= 8.85$ Hz, fenil), 7.40 (1H, s, inden C₂ = C-H), 7.57-7.62 (4H, m, fenil C₇-H, fenil C₄-H, fenil).

¹³C-NMR (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 31.70 (indenon C₃-CH₂), 47.84 (H₂C-N-CH₂, morfolin), 56.46 (OCH₃, fenil), 66.64 (H₂C-O-CH₂, morfolin), 105.82 (fenil C₇-CH), 114.61 (fenil-2CH), 126.65 (fenil-C), 127.54 (fenil-CH), 129.70 (fenil-C), 131.49 (inden C₂-C), 132.56 (fenil-2CH), 134.60 (inden C₂ = C-H), 138.07 (fenil-C), 142.14 (fenil-C), 151.96 (fenil-C), 155.05 (fenil-C), 193.31 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (m/z): (M⁺) 370.1204, (M⁺+1) 371.1232, (M⁺+2) 372.1181, (M⁺+3) 373.1210

5.1.7. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (7)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(4-metilpiperazin-1-il)benzaldehit (2.54 mmol, 0.52 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %89

E.N. : 226 °C

HPLC : %100

Elementel Analiz : C₂₂H₂₃ClN₂O₂ (M.A.= 382.88)

Hesaplanan : C : % 69.01 H : % 6.06 N : % 7.32

Bulunan : C : % 69.00 H : % 6.06 N : % 7.33

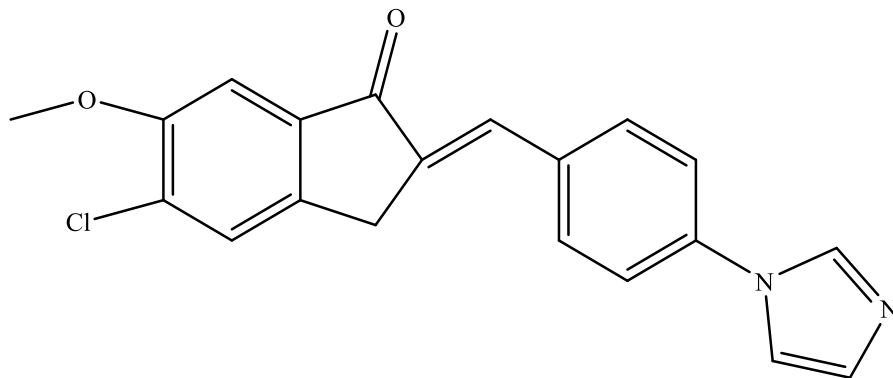
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3062.96 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2980.02, 2945.30, 2900.94, 2841.15, 2800.64 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1681.93 (C=O gerilim bandı), 1597.06, 1517.98, 1483.26, 1448.54 (C=C gerilim bandları), 1409.96, 1381.03, 1288.45, 1247.94, 1192.01, 1157.29, 1138.00, 1099.43, 1049.28 (C-N ve C-O gerilim bandları), 999.13, 921.97, 860.25, 817.82, 790.81, 752.24, 719.45 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 2.36 (3H, s, CH₃), 2.57 (4H, t, *J*= 4.98, 5.13, 10.11 Hz, CH₂-N-CH₂), 3.35 (4H, t, *J*= 4.98, 5.13, 10.11 Hz, CH₂-N-CH₂), 3.88 (2H, brs, inden C₃-2H), 3.96 (3H, s, OCH₃), 6.93 (2H, d, *J*= 8.88 Hz, fenil), 7.36 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.54-7.59 (4H, m, fenil C₇-H, fenil C₄-H, fenil).

¹³C-NMR (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 31.69 (indenon C₃-CH₂), 46.16 (piperazin C₄-CH₃), 47.54 (piperazin C_{3,5}-CH₂), 54.79 (piperazin C_{2,6}-CH₂), 56.43 (OCH₃, fenil), 105.75 (fenil C₇-CH), 114.73 (fenil-2CH), 125.45 (fenil-C), 127.50 (fenil-CH), 129.55 (fenil-C), 131.12 (inden C₂-C), 132.59 (fenil-2CH), 134.72 (inden C₂=C-H), 138.11 (fenil-C), 142.13 (fenil-C), 151.87 (fenil-C), 154.97 (fenil-C), 193.25 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M⁺) 383.1520, (M⁺+1) 384.1548, (M⁺+2) 385.1495, (M⁺+3) 386.1523

5.1.8. 5-Kloro-6-metoksi 2-(4-(1H-imidazol-1-il)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (8)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(1H-imidazol-1-il)benzaldehit (2.54 mmol 0.44 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %82.4 E.N. : 249 °C HPLC : %65

Elementel Analiz : C₂₀H₁₅ClN₂O₂ (M.A.= 350.80)

Hesaplanan : C : % 68.48 H : % 4.31 N : % 7.99

Bulunan : C : % 68.44 H : % 4.28 N : % 7.96

IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3128.54, 3068.75, 3008.95 (Aromatik C-H gerilim bandları), 2943.37, 2904.80, 2845.00 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1689.64 (C=O gerilim bandı), 1618.28, 1602.85, 1575.84, 1523.76, 1479.40, 1465.90, 1425.40 (C=C ve C=N gerilim bandları), 1408.04, 1284.59, 1251.80, 1193.94, 1174.65, 1163.08, 1103.28, 1043.49 (C-N ve C-O gerilim bandları), 993.34, 960.55, 929.69, 900.76, 862.18, 835.18, 792.74, 765.74, 734.88, 709.80 (1,4-disüstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

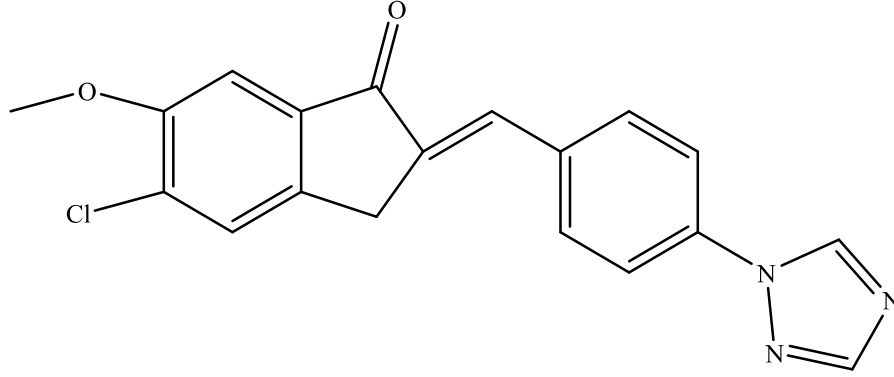
¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 3.93 (3H, s, OCH₃), 4.03 (2H, s, inden C₃-2H), 7.13 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.38 (1H, s, imidazol C-H), 7.55 (1H, s, imidazol C-H), 7.75-7.82 (4H, m, fenil C-H), 7.87 (2H, d, *J*= 8.40 Hz, fenil), 8.35 (1H, s, imidazol C-H).

¹H-NMR (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 3.97 (5H, s, inden C₃-2H, OCH₃), 7.26-7.28 (1H, m, fenil C-H), 7.36 (1H, brs, imidazol C-H), 7.39 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.50 (2H, d, *J*= 8.49 Hz, fenil), 7.58 (1H, s, imidazol C-H), 7.65 (1H, brs, fenil C-H), 7.76 (2H, d, *J*= 8.52 Hz, fenil), 7.95 (1H, brs, imidazol C-H).

¹³C-NMR (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 31.47 (indenon C₃-CH₂), 56.48 (OCH₃, fenil), 105.91 (fenil C₇-CH), 117.78 (fenil-C), 121.39 (fenil-2CH), 127.67 (fenil-CH), 130.65 (fenil-C), 130.96 (inden C₂-C), 131.05 (fenil-C), 132.20 (fenil-2CH), 132.57 (imidazol-CH), 134.28 (imidazol-CH), 135.42 (inden C₂=C-H), 137.40 (fenil-C), 137.91 (fenil-C), 142.15 (fenil-CH), 155.29 (fenil-C), 193.00 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M⁺) 351.0885, (M⁺+1) 352.0927, (M⁺+2) 353.0856, (M⁺+3) 354.089

5.1.9. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(1H-1,2,4-triazol-4-il)benziliden]-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (9)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(1H-1,2,4-triazol-4-il)benzaldehit (2.542 mmol, 0.44 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %92	E.N. : 277 °C	HPLC : %60	
Elementel Analiz	: C ₁₉ H ₁₄ ClN ₃ O ₂ (M.A.= 351.79)		
Hesaplanan	: C : % 64.87	H : % 4.01	N : % 11.94
Bulunan	: C : % 64.79	H : % 4.08	N : % 11.98

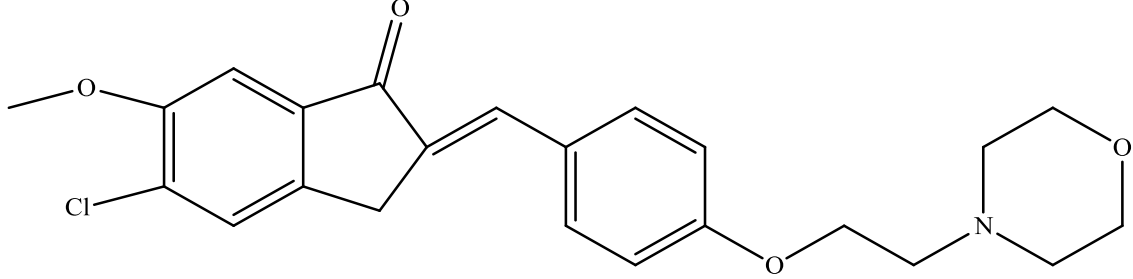
IR ν_{\max} (cm⁻¹): 3116.97, 3064.89 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2945.30, 2914.44, 2845.00 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1693.50 (C=O gerilim bandı), 1627.92, 1602.85, 1573.91, 1521.84, 1483.26, 1438.90, 1425.40 (Aromatik C=C ve C=N gerilim bandları), 1408.04, 1292.31, 1274.95, 1232.51, 1176.58, 1153.43, 1097.50, 1047.35 (C-N ve C-O gerilim bandları), 981.77, 962.48, 921.97, 856.39, 825.53, 790.81, 748.38, 671.23 (1,4-disübstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 3.93 (3H, s, OCH₃), 4.06 (2H, s, inden C₃-2H), 7.40 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.57 (1H, s, fenil C₇-H), 7.76 (1H, s, fenil C₄-H), 7.92 (2H, d, *J*= 8.40 Hz, fenil), 7.98 (2H, d, *J*= 8.80 Hz, fenil), 8.25 (1H, s, triazol C-H), 9.37 (1H, s, triazol C-H).

¹³C-NMR (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 31.47 (indenon C₃-CH₂), 56.96 (OCH₃, fenil), 106.37 (fenil C₇-CH), 119.98 (fenil-2CH), 128.38 (fenil-CH), 129.47 (fenil-C), 132.34 (inden C₂=C-H), 132.68 (fenil-2CH), 134.54 (fenil-C), 136.25 (fenil-C), 137.44 (inden C₂-C), 137.68 (fenil-C), 143.09 (triazol-CH), 143.44 (triazol-CH), 153.17 (fenil-C), 155.04 (fenil-C), 192.75 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (m/z): (M^+) 352.0845, (M^++1) 353.0875, (M^++2) 354.0806, (M^++3) 355.0852

5.1.10. 5-Kloro-6-metoksi-2-(4-(2-morfolinoetoksi)benziliden)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (10)



5-Kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1H-inden-1-on (2.54 mmol, 0.5 g) ve 4-(2-morfolinoetoksi)benzaldehit (2.54 mmol, 0.60 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir.

Verim : %81.70 E.N. : 168 °C HPLC : %100

Elementel Analiz : C₂₃H₂₄ClNO₄ (M.A.= 413.89)

Hesaplanan : C : % 66.74 H : % 5.84 N : % 3.38

Bulunan : C : % 66.73 H : % 5.86 N : % 3.41

IR ν_{max} (cm⁻¹): 3057.11 (Aromatik C-H gerilim bandı), 2945.30, 2854.65, 2802.57 (Alifatik C-H gerilim bandları), 1683.86 (C=O gerilim bandı), 1622.13, 1598.99, 1570.06, 1508.33, 1479.40, 1456.26 (C=C gerilim bandları), 1290.38, 1255.66, 1176.58, 1155.36, 1118.71, 1101.35, 1047.35, 1029.99, 1012.63 (C-N ve C-O gerilim bandları), 956.69, 941.26, 873.75, 825.53, 792.74, 736.81 (1,4-disüstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bandları).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 2.47-2.49 (4H, m, CH₂-N-CH₂), 2.71 (2H, t, *J*= 5.20, 6.00, 11.20 Hz, fenil-O-CH₂-CH₂-N), 3.36 (2H, brs, inden C₃-2H), 3.59 (4H, t, *J*= 4.80, 4.00, 8.80 Hz, CH₂-O-CH₂), 3.93 (3H, s, OCH₃), 4.15 (2H, t, *J*= 5.20, 6, 11.20 Hz, benziliden-O-CH₂), 7.06 (2H, d, *J*= 8.80 Hz, fenil), 7.36 (1H, s, inden C₂=C-H), 7.47 (1H, s, fenil C₇-H), 7.68 (2H, d, *J*= 8.80 Hz, fenil), 7.73 (1H, s, fenil C₄-H).

¹³C-NMR (100 MHz) (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 30.93 (indenon C₃-CH₂), 53.49 (H₂C-N-CH₂, morfolin), 56.33 (OCH₃, fenil), 56.79 (fenil-O-CH₂-CH₂-morfolin), 65.49 (fenil-O-CH₂-CH₂-morfolin), 66.07 (H₂C-O-CH₂, morfolin), 105.66 (fenil C₇-CH), 115.02 (fenil-2CH), 127.28 (fenil-CH), 127.67 (fenil-2C), 128.45 (inden C₂-C), 132.53 (fenil-2CH),

133.00 (inden C₂ = C-H), 137.21 (fenil-C), 142.51 (fenil-C), 154.40 (fenil-C), 159.84 (fenil-C), 192.01 (indanon C₁-C=O).

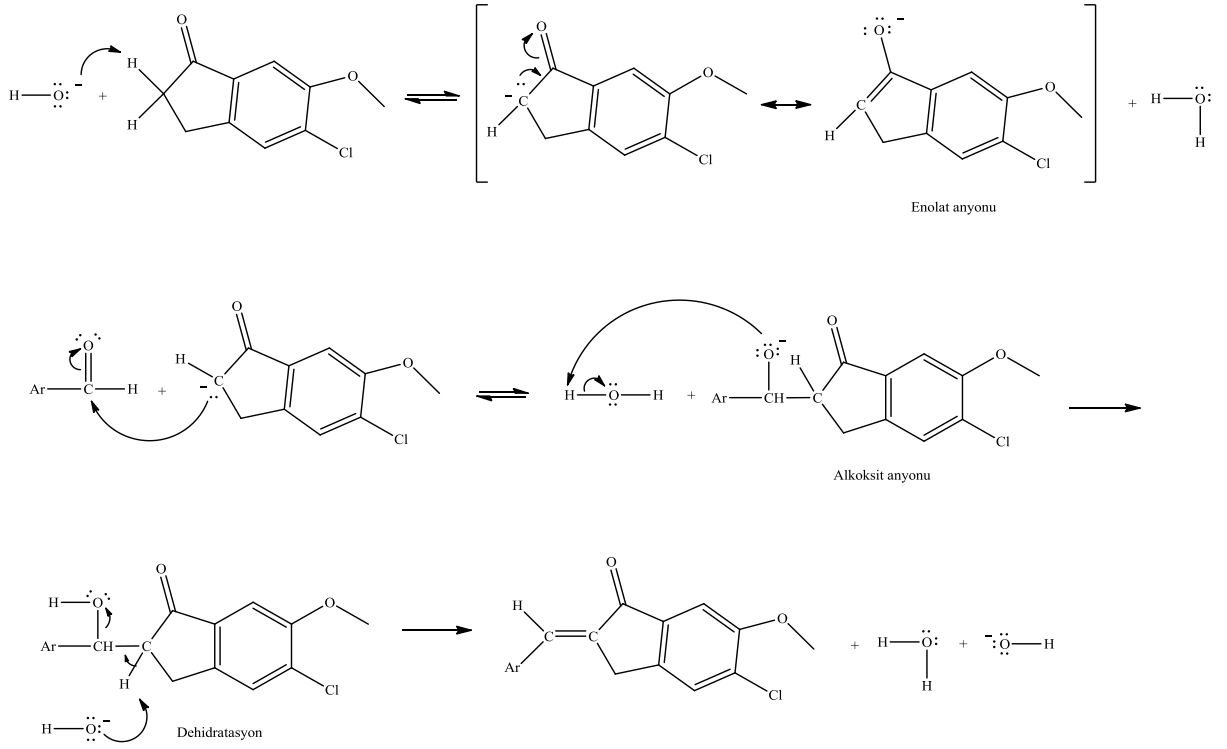
¹³C-NMR (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 31.56 (indenon C₃-CH₂), 54.09 (H₂C-N-CH₂, morfolin), 56.45 (OCH₃, fenil), 57.49 (fenil-O-CH₂-CH₂-morfolin), 65.91 (fenil-O-CH₂-CH₂-morfolin), 66.88 (H₂C-O-CH₂, morfolin), 105.83 (fenil C₇-CH), 115.08 (fenil-2CH), 127.57 (fenil-CH), 128.08 (fenil-2C), 129.99 (inden C₂-C), 132.61 (fenil-2CH), 134.17 (inden C₂ = C-H), 137.79 (fenil-C), 142.22 (fenil-C), 155.08 (fenil-C), 160.10 (fenil-C), 193.31 (indanon C₁-C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M⁺) 414.1463, (M⁺+1) 315.1498, (M⁺+2) 416.1441, (M⁺+3) 417.1471

5.2. Sentez Yönteminin Değerlendirilmesi

5.2.1. 5-Kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on bileşiğinin elde edilişi

p-Süstitüe benzaldehit türevleri, 5-kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on ile bazik ortamda tepkimeye (Claisen-Schmidt kondenzasyonu) sokulur ve şalkonlar elde edilir (Şekil 5.1). Tepkime kuvvetli bazik şartlarda, 5-kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-onun α-karbonunun bir protonunu kopartarak enolat anyonu meydana gelir. Enolat anyonu nükleofil gibi davranarak *para* süstitüe aromatik aldehitin karbonil karbonuna hücum ederek alkoksit anyonu oluşturur. Kararsız olan alkoksit anyonu H₂O'dan bir proton alıp dışarıya 1 mol su çıkması ile eliminasyon oluşmakta ve % 70-92 verimle şalkonlar elde edilmiştir.



Şekil 5.1. Sentezlenen Şalkon Bileşiklerinin Genel Sentez Mekanizması

5.3. Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

5.3.1. IR Spektrumlarının Değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları incelendiğinde; aromatik C-H gerilim bandları $3128.54\text{-}3008.95\text{ cm}^{-1}$ 'de, alifatik C-H gerilim bandları $2980.02\text{-}2800.64\text{ cm}^{-1}$ 'de, C=O gerilim bandı $1693.50\text{-}1674.21\text{ cm}^{-1}$ 'de, C=C ve C=N gerilim bandları $1627.92\text{-}1417.68\text{ cm}^{-1}$ 'de, C-N ve C-O gerilim bandları $1411.89\text{-}1010.70\text{ cm}^{-1}$ 'de, aromatik halkalara ait düzlem dışı C-H eğilme bandları $999.13\text{-}671.23\text{ cm}^{-1}$ 'de ortak olarak gözlenmiştir.

4 No'lu bileşiğe ait IR spektrumunda amit N-H gerilim bandı 3300.20 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir.

Bansal ve arkadaşları (2011), şalkonlara ait C=O gerilme bandını $1700\text{-}1670\text{ cm}^{-1}$, C=C ve C=N gerilim bandlarını $1600\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$, Prakasham ve arkadaşları (2012), C-N ve C-O gerilim bandları $1426\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ aralığında saptamışlardır.

5.3.2. ¹H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR spektrum sonuçları incelendiğinde; **1** nolu bileşikteki pirolidin halkasının azota komşu $-CH_2-$ protonlarının 3.36-3.40 ppm aralığında, pirolidin halkasının C_{3,4} konumlarındaki $-CH_2-$ protonlarının ise 2.03-2.08 ppm'de rezonans verdikleri gözlemlenmiştir. **2** Nolu bileşikte azota bağlı metil grupları CH_3-N-CH_3 'e 3.29 ppm'de singlet olarak saptanmıştır. **3** Nolu bileşikte metilene bağlı metil grupları $CH_3-CH_2-N-CH_2-CH_3$ 1.13 ppm'de, azota bağlı metilen grupları $CH_3-CH_2-N-CH_2-CH_3$ 3.41 ppm'de quartet olarak rezonans vermiştir. **4** Nolu bileşikte asetamid yapısında yer alan CH_3 2.09 ppm'de, NH ise 10.15 ppm'de singlet olarak gözlemlenmiştir. **5** Nolu bileşikte piperidin halkasındaki azota komşu $-CH_2-$ protonları 3.32 ppm'de, piperidin halkasının C_{3,4,5} konumlarındaki $-CH_2-$ protonları ise 1.58 ppm'de gözlemlenmiştir. **6** Nolu bileşikte morfolin halkasında azota komşu $-CH_2-$ protonları 3.30 ppm'de, oksijene komşu $-CH_2-$ protonları 3.89 ppm'de triplet olarak saptanmıştır. **7** Nolu bileşikte piperazin halkasının 4 nolu konumunda bulunan azota bağlı $-CH_3$ protonları 2.36 ppm'de singlet, piperazin halkasının azota komşu $-CH_2-$ protonları 2.57 ve 3.35 ppm'de triplet olarak rezonans vermiştir. **8** Nolu bileşikte bulunan imidazol halkasına ait protonlar sırasıyla 7.13, 7.55 ve 8.35 ppm'de singlet, **9** nolu bileşikteki triazol halkasına ait protonlar sırasıyla 8.25 ve 9.37 ppm'de singlet olarak saptanmıştır. **10** Nolu bileşikte morfolin halkasında azota komşu $-CH_2-$ protonları 2.47-2.49 ppm'de multipler, oksijene komşu $-CH_2-$ protonları 3.59 ppm'de triplet, benziliden- $O-CH_2$ 'ye ait protonlar 4.15 ppm'de triplet, morfolinoetoksi yapısındaki azota komşu ($=N-CH_2-CH_2-O-$) metilen 2.71 ppm'de triplet olarak gözlemlenmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen tüm bileşiklerde ortak olarak bulunan; $O-CH_3$ 'e ait protonlar 3.93-3.98 ppm'de singlet, inden halkasının 3 numaralı konumunda yer alan $-CH_2-$ protonları 3.36-4.06 ppm'de singlet veya broad singlet, inden halkasının 2 numaralı konumunda yer alan $C=CH$ protonu 7.34-7.40 ppm'de singlet, inden halkasının 4 numaralı konumunda yer alan proton 7.54-7.76 ppm'de singlet, broad singlet veya multipler, inden halkasının 7 numaralı konumunda yer alan proton 7.42-7.82 ppm'de singlet, broad singlet veya multipler, fenil protonları 6.60-7.98 ppm arasında dublet ($J=8.40-9.20$ Hz) veya multipler olarak gözlemlenmiştir. Bütün protonlar uygun integral değerlerine sahip bulunmuştur.

5.3.3. ¹³C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrum sonuçları incelendiğinde; **1** nolu bileşikte pirolidin halkasının C₃₍₄₎-CH₂ karbonu 24.90-25.46 ppm'de, C_{2,5}-2CH₂ karbonları 47.55 ppm'de, **2** nolu bileşikte dimetilamino grubunun N(CH₃)₂ karbonları 40.06 ppm'de, **3** nolu bileşikte dietilamino grubunun N(C₂H₅)₂ karbonları 12.31 ve 43.66 ppm'de, **4** nolu bileşikte asetil yapısını oluşturan CH₃ karbonu 23.98 ppm'de, asetamit yapısını teşkil eden C=O karbonu 168.56 ppm'de, **5** nolu bileşikte piperidin halkasının C₄-CH₂ karbonu 23.80 ppm'de, C_{3,5}-2CH₂ karbonları 24.78 ppm'de, C_{2,6}-2CH₂ karbonları 47.86 ppm'de, 23.80-47.86 ppm'de, **6** nolu bileşikte morfolin halkasının azotuna bağlı karbonlar (CH₂-N-CH₂) 47.84 ppm'de, oksijenine bağlı karbonlar (CH₂-O-CH₂) 66.64 ppm'de, **7** nolu bileşikte piperazin halkasının 4 nolu konumuna bağlı CH₃ karbonu 46.16 ppm'de, C_{3,5}-CH₂ karbonları 47.54 ppm'de, C_{2,6}-CH₂ karbonları 54.79 ppm'de, **10** nolu bileşikte morfolin halkasının azotuna bağlı karbonlar (CH₂-N-CH₂) 53.49 ppm'de, oksijenine bağlı karbonlar (CH₂-O-CH₂) 66.07 ppm'de tespit edilmiştir.

Sonuç bileşiklerinde ortak olarak bulunan O-CH₃ karbonu 56.26-56.96 ppm'de, indenon halkasının 3 numaralı konumunda bulunan -CH₂- karbonu 30.96-31.88 ppm'de, indenon halkasının 7 numaralı kısmında bulunan -CH- karbonu 105.45-105.91 ppm'de, indenon halkasının 2 numaralı konumunda yer alan =CH protonu 132.34-135.84 ppm'de, indenonun C=O karbonları 191.53-193.31 ppm'de, diğer aromatik karbonlar 111.31-159.84 ppm'de gözlemlenmiştir.

5.3.4. Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin kütle spektrumları, ESI yöntemi ile alınmış ve oluşan yüklü atom veya gruplar kütle/yük (*m/z*) oranına göre saptanmıştır.

1-10 Nolu bileşiklerin kütle spektrumlarında, [M+H]⁺, [M+2H]⁺, [M+3H]⁺ pikleri saptanmıştır.

5.4. Biyolojik Etki Testlerinin Değerlendirilmesi

5.4.1. Sitotoksik Etki Testlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

MTT yöntemi, mitokondriyal süksinat dehidrogenaz aktivitesi üzerinden sarı MTT boyasını mor renkli formazan kristallerine çevirerek hücreler üzerinde bileşiklerin sitotoksitesini ölçen ve çok tercih edilen bir yöntemdir (Varache-Lembège, 2008).

Bileşiklerin MCF-7 insan meme adenokarsinoma ve HeLa insan serviks karsinoma ve NIH/3T3 fare embriyonik fibroblast (sağlıklı) hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. Sitotoksik Etki Testi Sonuçları (μM)

Bileşik	IC ₅₀ Değerleri (μM)		
	HeLa	MCF-7	NIH/3T3
1	>2500	1300±360.56	>2500
2	70.0±20.0	316.67±76.38	216.67±76.38
3	21.67±3.51	1933.33±230.94	266.67±57.74
4	25.0±8.66	183.33±28.87	>2500
5	24.0±5.29	900.0±173.21	270.0±26.46
6	40.0±10.0	>2500	93.33±15.28
7	16.0±1.73	13.0±1.0	55.0±8.66
8	>2500	>2500	>2500
9	31.67±7.64	43.33±7.64	29.30±3.61
10	>2500	17.5±3.54	>2500
Cisplatin	21.0±6.56	12.5±3.53	N.D.

2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 9 no'lu bileşikler diğer bileşiklere göre HeLa hücre dizisine karşı daha düşük dozlarda sitotoksik etki göstermektedir. Bu bileşiklerden 7 no'lu bileşik pozitif kontrol cisplatine kıyasla HeLa hücrelerine karşı daha fazla sitotoksik etkinliğe sahiptir (Çizelge 5.1). Ancak 2 ve 6 no'lu bileşikler cisplatin kadar sitotoksik etkinlik göstermemişlerdir. Ayrıca 9 no'lu bileşik NIH/3T3 fare embriyonik fibroblast (sağlıklı) hücre dizileri üzerine yüksek toksisite göstermiş olması nedeniyle apoptotik etki mekanizma çalışmalarına alınmamıştır.

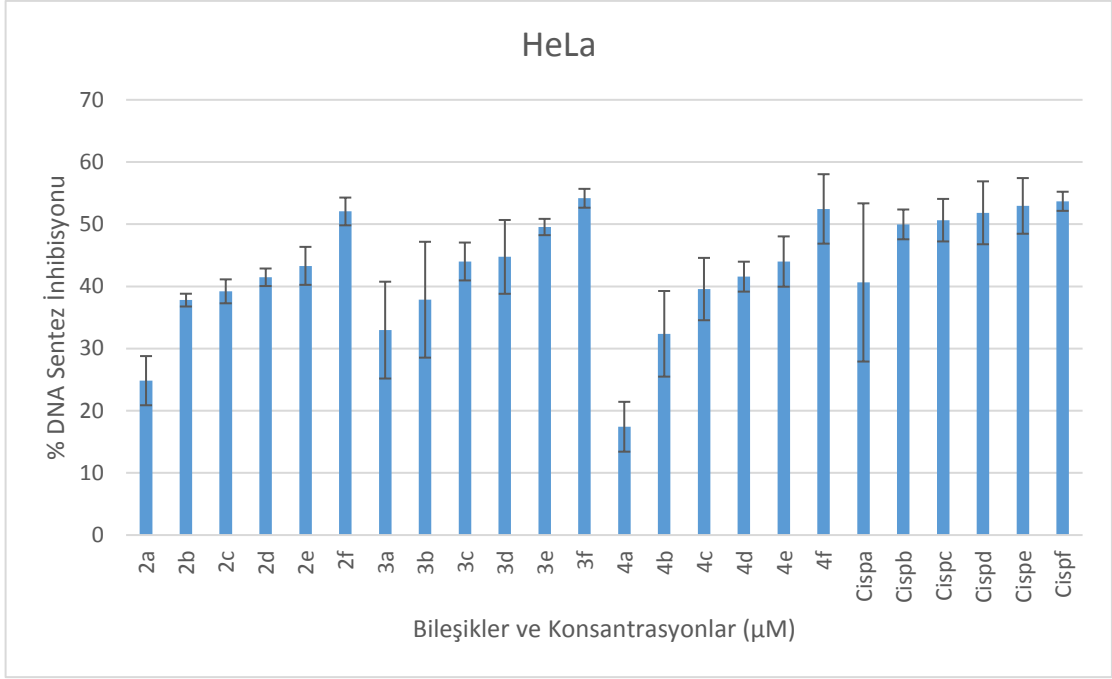
7, 9 ve **10** no'lu bileşikler ise diğer bileşiklere göre MCF-7 hücre dizisine karşı daha düşük dozlarda sitotoksik etki göstermektedir. **7** no'lu bileşik MCF-7 hücrelerinde pozitif kontrol cisplatine benzer sitotoksik etkinliğe sahiptir.

Sonuç bileşiklerinin antikanser etki sonuçları değerlendirildiğinde **2, 3, 4, 5** ve **6** no'lu bileşiklerin HeLa hücre hattına karşı daha seçici sitotoksik etkili oldukları düşünülebilir (Çizelge 5.1). Tüm bileşikler arasında ise **7** no'lu bileşik pozitif kontrol olan HeLa hücrelerinde cisplatinden çok daha düşük ve MCF-7 hücrelerinde cisplatine benzer sahip olduğu sitotoksik etkinlik sebebiyle ve normal fibroblast hücrelerine karşı düşük sitotoksiteden dolayı en yüksek antikanser etkinliğe sahip bileşik olarak düşünülmektedir. Bileşik **7** için HeLa, MCF-7, NIH/3T3 hücre dizilerine karşı IC₅₀ sırasıyla 16.0±1.73, 13.0±1.0, 55.0±8.66 µM ve cisplatin için sırasıyla HeLa ve MCF-7, 21.0±6.56 ve 12.5±3.53 µM'dir.

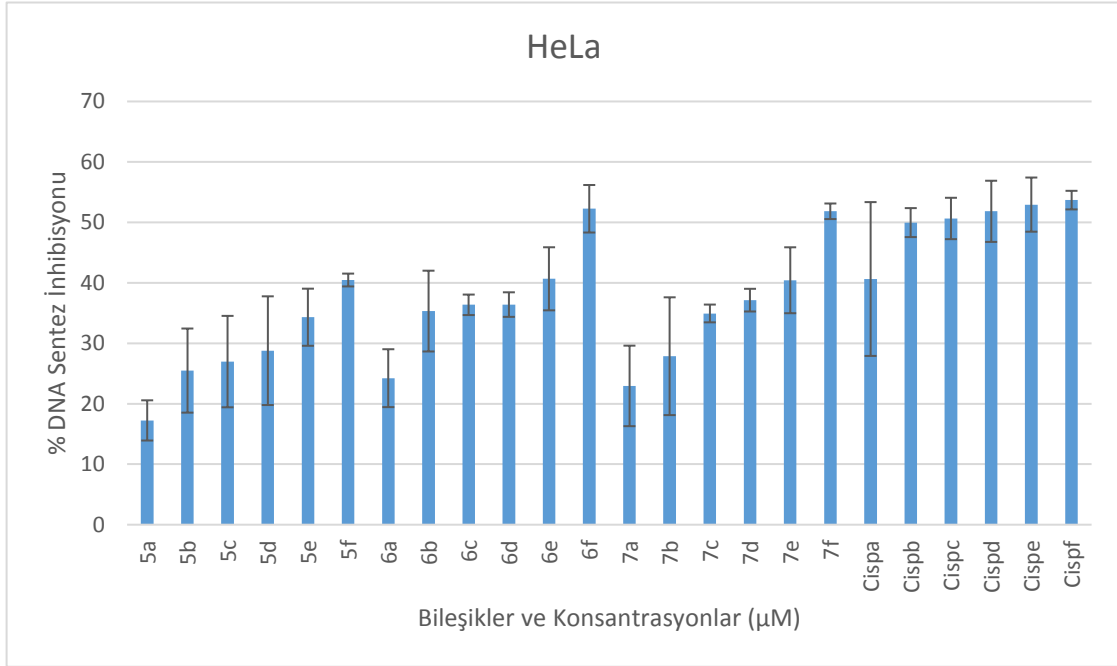
Bileşiklerden **1, 8** ve **10**'un (>2500 µM) HeLa hücrelerinde etkisiz oldukları bulunmuştur.

5.4.2. DNA Sentezi İnhibisyon Etki Testlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

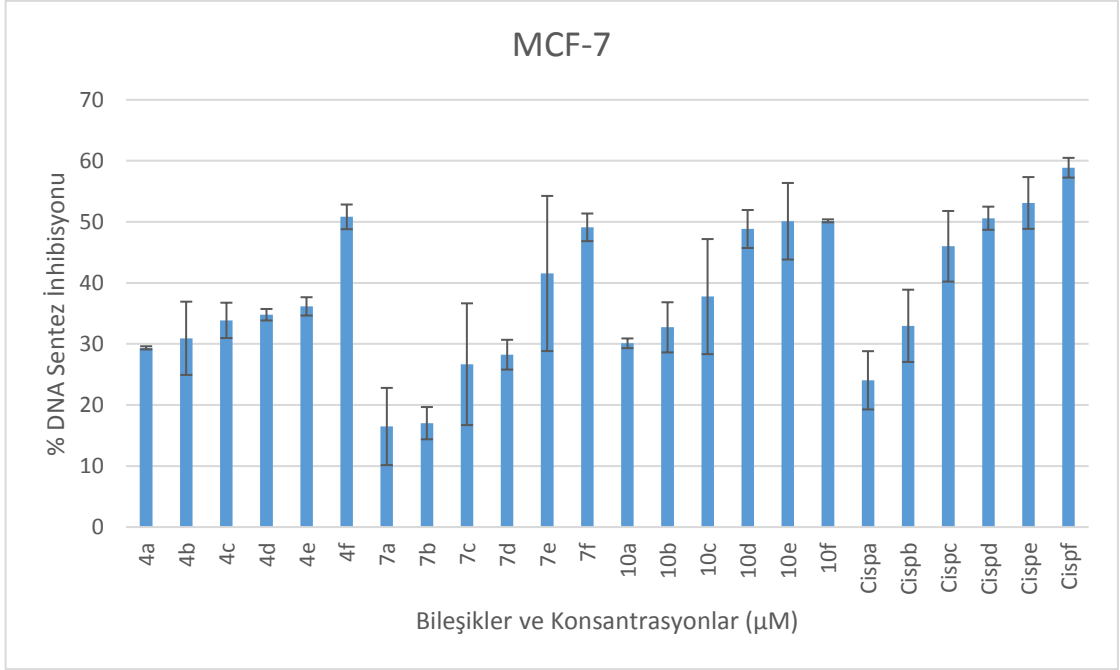
MTT deneyi sonucunda antikanser etkili olduğu saptanan bileşikler her iki hücre tipi için de DNA sentez inhibisyon etkilerinin tayini için BrdU testine alınmışlardır (Şekil 5.2-Şekil 5.4).



Şekil 5.2. Bileşik 2, 3, 4 ve Cisplatinin HeLa Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları
(a: 10 μM, b: 50 μM, c: 100 μM, d: 200 μM, e: 400 μM, f: 800 μM)



Şekil 5.3. Bileşik 5, 6, 7 ve Cisplatinin HeLa Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları
(a: 10 μM, b: 50 μM, c: 100 μM, d: 200 μM, e: 400 μM, f: 800 μM)



Şekil 5.4. Bileşik 4, 7, 10 ve Cisplatinin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki BrdU Test Sonuçları (a: 10 µM, b: 50 µM, c: 100 µM, d: 200 µM, e: 400 µM, f: 800 µM)

Hücre proliferasyon ELISA, BrdU (kolorimetrik) deneyi replike olan hücrelerde DNA sentezi esnasında BrdU inkorporasyonunun ölçümünde dayalı hücre proliferasyonunu ölçmek amacıyla kullanılır.

Bu test ile 3 ve 6 no'lu bileşiklerin yüksek dozlarda DNA sentezi inhibisyonu etkilerinin HeLa hücrelerinde diğer bileşiklere kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir. 3 No'lu bileşiğin 800 µM dozunun DNA sentez inhibisyon etkisinin cisplatininden daha fazla olduğu bulunmuştur (Şekil 5.2,5.3).

MCF-7 hücrelerinde ise bileşik 10'un diğer bileşiklere kıyasla MCF-7 hücrelerinde daha fazla DNA sentezi inhibisyonuna neden olduğu görülmüştür (Şekil 5.4).

Sonuçlara bakıldığında bileşiklerin her iki hücre tipinde de doza bağımlı olarak antiproliferatif etkiler gösterdikleri söylenebilir. 3 No'lu bileşiğin HeLa hücreleri üzerine daha fazla DNA sentezi inhibisyonuna neden olduğu, 10 no'lu bileşiğin ise MCF-7 hücreleri için daha fazla DNA sentez inhibisyonuna neden olduğu saptanmıştır.

5.4.3. Apoptotik Etki Testlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi

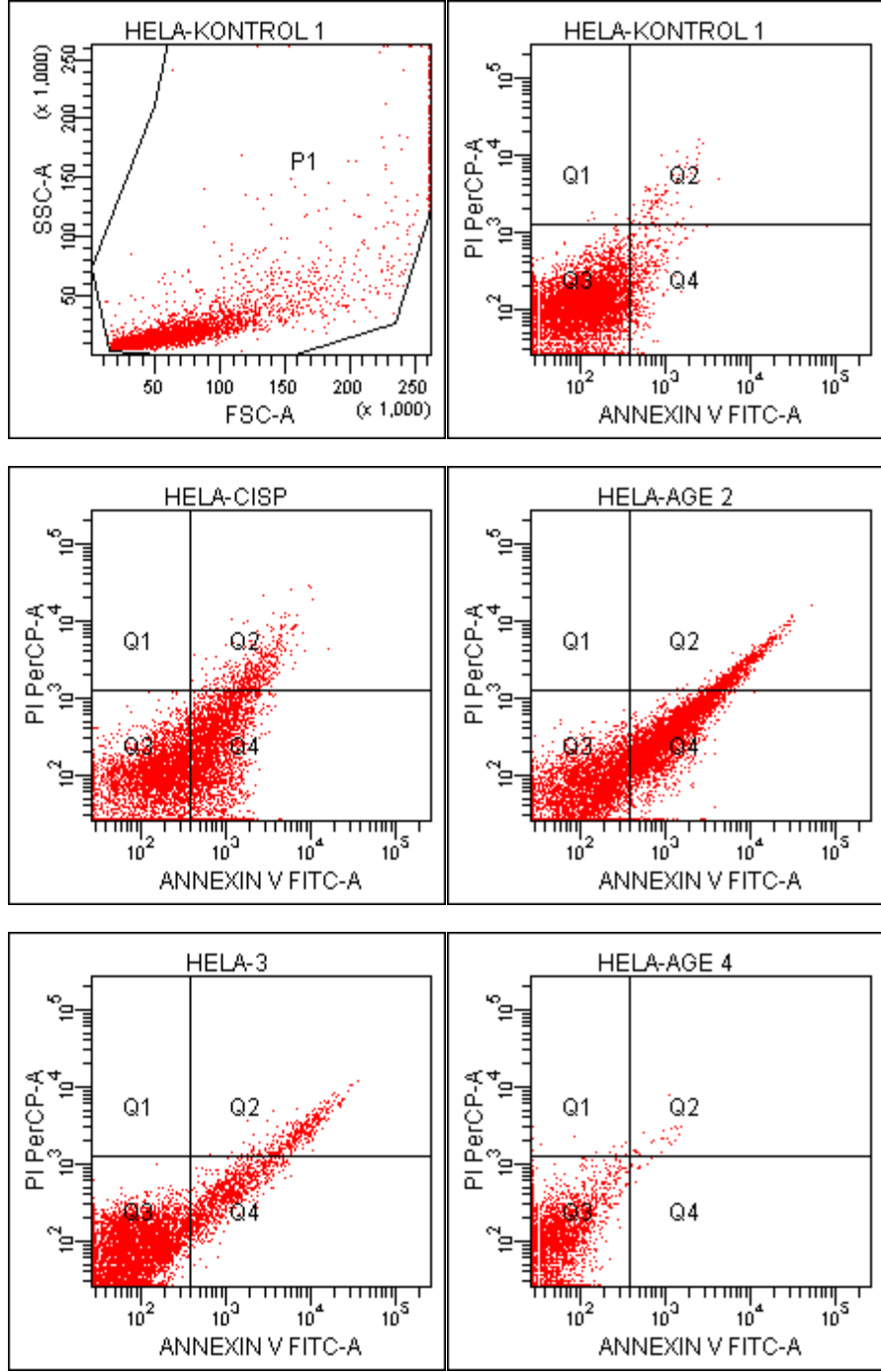
Sitotoksosite deneylerinin sonuçlarından hareketle, **2, 3, 4, 5, 6** ve **7** no'lu bileşiklerin daha ileri düzeyde antikanser araştırmaları için HeLa hücreleri ile ve **7** ve **10** no'lu bileşiklerin ise MCF-7 hücreleri için akım sitometri ile apoptotik etki deneyleri alınmışlardır (Çizelge 5.2).

Çizelge 5.2. *Bileşik Uygulanan HeLa Hücreleri Anneksin V-FITC/Propidyum İyodür Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri*

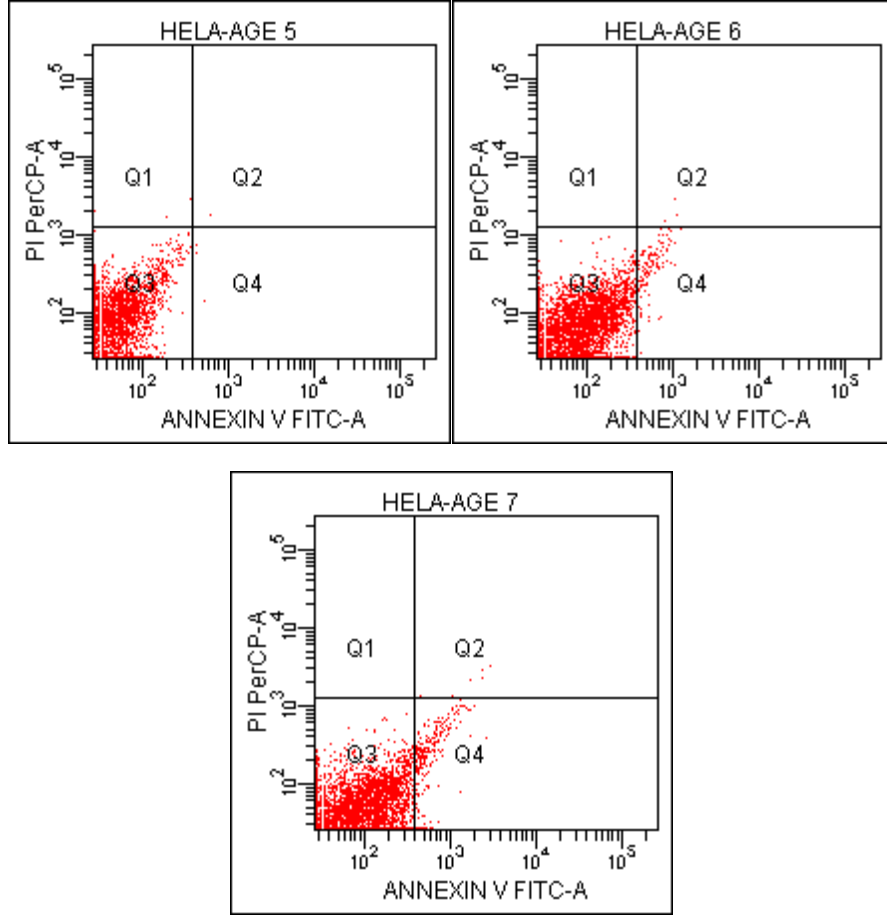
Gruplar	% Erken apoptotik hücreler	% Geç apoptotik hücreler	% Canlı hücreler
Kontrol	4.2	1.1	94.7
Cisplatin (pozitif kontrol)	36.5	5.5	58.0
Bileşik 2	46.1	7.0	46.9
Bileşik 3	11.2	4.0	84.8
Bileşik 4	0.1	0.3	99.4
Bileşik 5	0.1	0.0	99.9
Bileşik 6	1.3	0.0	98.6
Bileşik 7	2.8	0.1	97.1

HeLa hücreleri bileşiklerin ve cisplatin'in IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat kültür edildi. Her örnek için 10.000 hücre analiz edildi ve kuadran analizi uygulandı.

Apoptotik mekanizmanın araştırılması amacıyla, HeLa hücreleri **2, 3, 4, 5, 6** ve **7** no'lu bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. HeLa hücreleri üzerinde erken ve geç apoptotik yüzdeleri kontrolde %5.3 iken bileşiklerde sırasıyla, %53.1, 15.2, 0.4, 0.1, 1.3 ve 2.9 olarak tespit edilmiştir. Bu değer cisplatinde %42.0 olarak bulunmuştur. Bu durumda **2** no'lu bileşik HeLa hücrelerinde en fazla apoptotik orana sahip gözükmemektedir. **3** No'lu bileşik ise daha az apoptotik etkiye sahiptir (Çizelge 5.2, Şekil 5.5).



Şekil 5.5. Bileşiklerin HeLa Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri



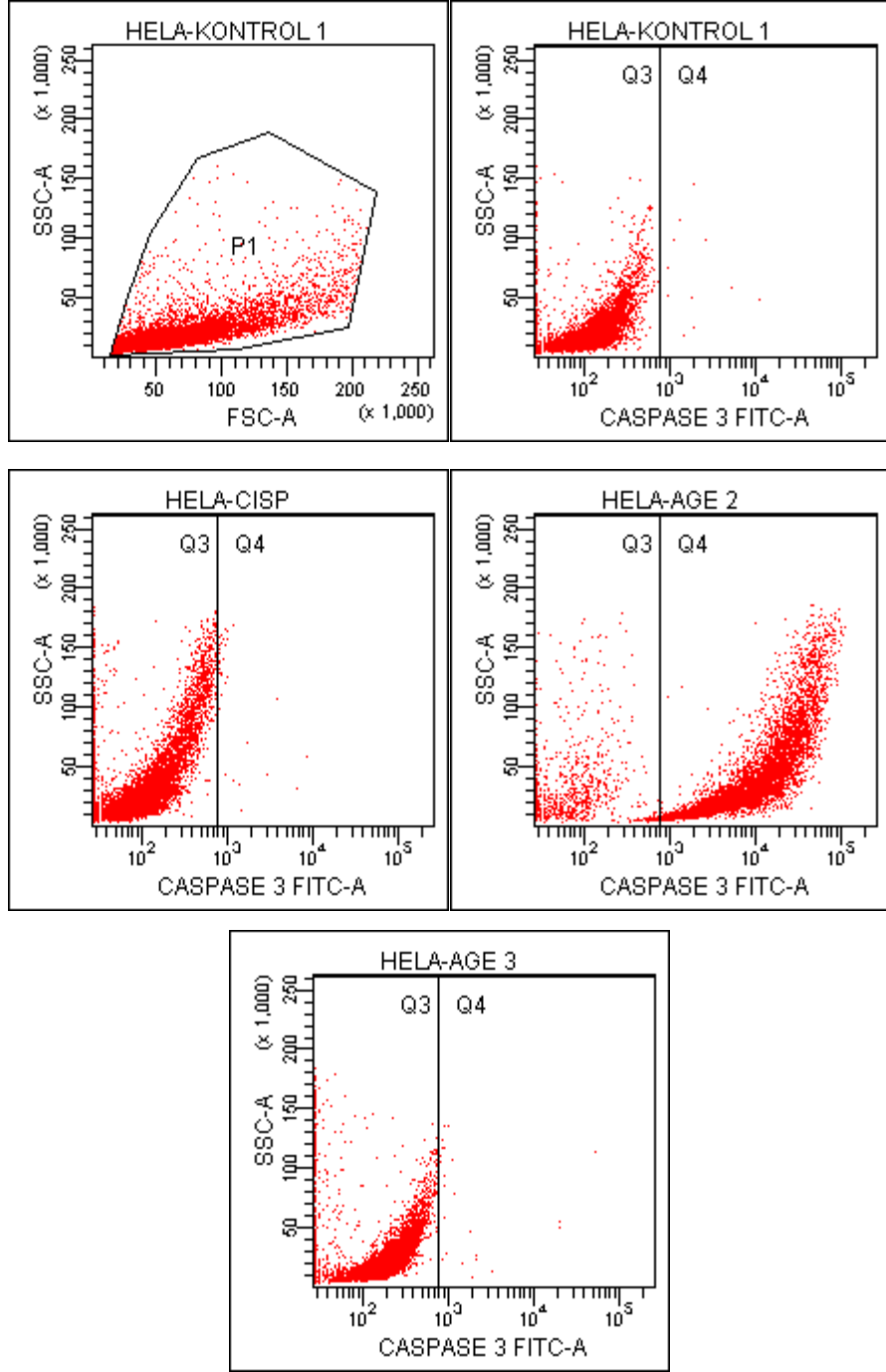
Şekil 5.5. (Devam) *Bileşiklerin HeLa Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri*

Kaspaz 3 aktivitesi araştırılması amacıyla, HeLa hücreleri **2** ve **3** no'lu bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. HeLa hücreleri üzerinde kaspaz 3 pozitif hücre yüzdeleri kontrolde %1.4 iken bileşiklerde sırasıyla, %72.9 ve 3.7 olarak tespit edilmiştir. Bu değer cisplatine %3.4 olarak bulunmuştur. Bu durumda **2** no'lu bileşik en fazla kaspaz 3 aktivitesine sahiptir. Ayrıca **3** no'lu bileşik HeLa hücrelerinde cisplatine benzer kaspaz 3 aktivitesi göstermiştir (Çizelge 5.3, Şekil 5.6).

Çizelge 5.3. *Bileşik Uygulanan HeLa Hücreleri Kaspaz 3 Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri*

Gruplar	% Kaspaz 3	% Kaspaz 3
	negatif (-) hücreler	pozitif (+) hücreler
Kontrol	95.7	1.4
Cisplatin (pozitif kontrol)	85.2	3.4
Bileşik 2	19.7	72.9
Bileşik 3	88.6	3.7

HeLa hücreleri bileşiklerin ve cisplatin'in IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat kültür edildi. Her örnek için 10.000 hücre analiz edildi ve kuadran analizi uygulandı.



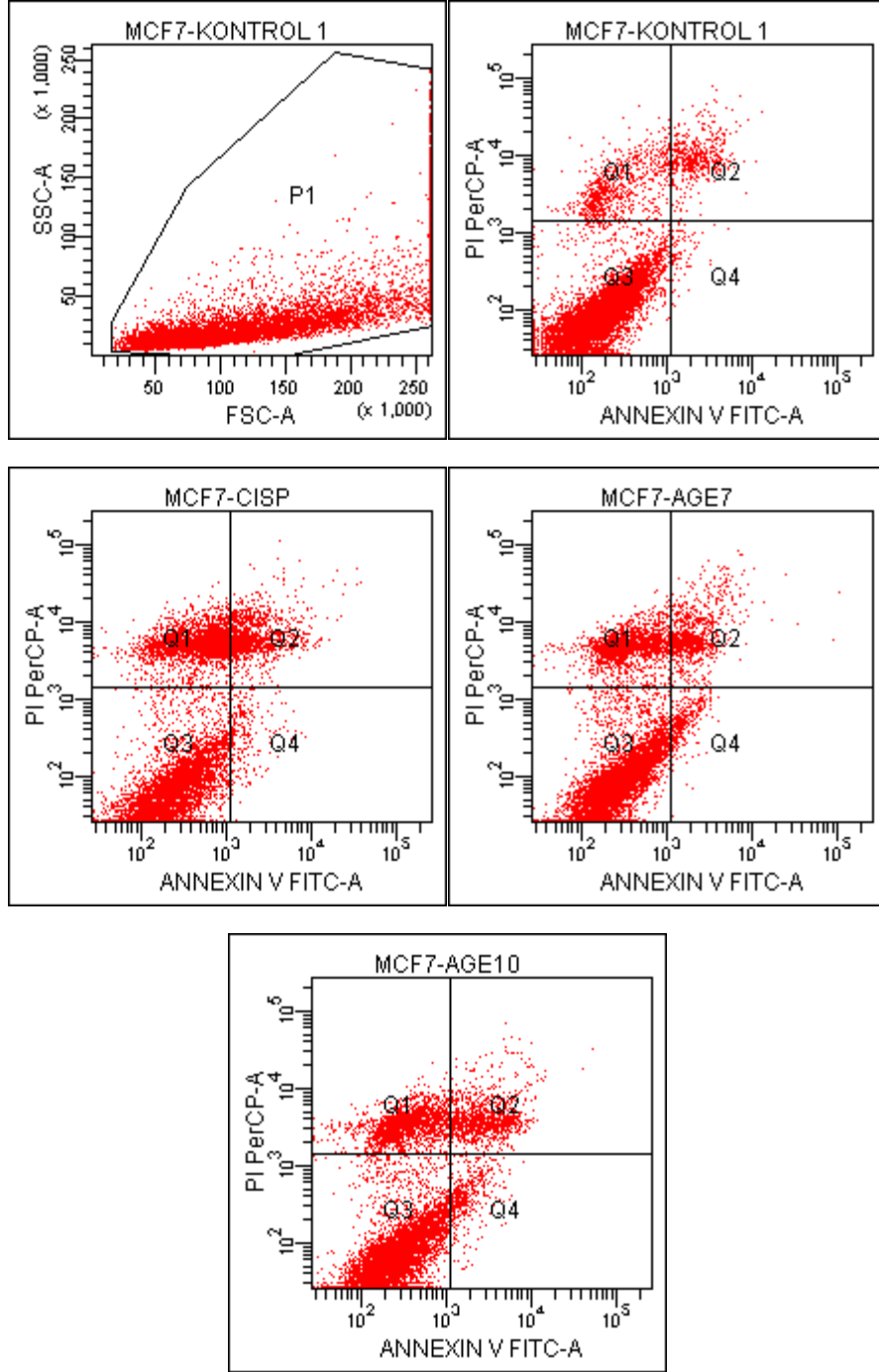
Şekil 5.6. Bileşiklerin HeLa Hücreleri Üzerindeki Kaspaz-3 Aktivite Sonuçları

Diğer MCF-7 hücreleri **7** ve **10** no'lu bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. MCF-7 hücreleri üzerinde erken ve geç apoptotik yüzdeleri kontrolde %6.0 iken bileşiklerde sırasıyla, %12.8 ve 15.3 olarak tespit edilmiştir. Bu değer cisplatine % 16.6 olarak bulunmuştur. Bu durumda her üç bileşik de MCF-7 hücrelerinde apoptotik etkiye sahip gözükmemektedir (Çizelge 5.4, Şekil 5.7).

Çizelge 5.4. *Bileşik Uygulanan MCF-7 Hücreleri Anneksin V-FITC/Propidyum İyodür Akım Sitometri Kuadran Analiz Yüzdeleri*

Gruplar	% Erken apoptotik hücreler	% Geç apoptotik hücreler	% Canlı hücreler
Kontrol	0.8	5.2	85.9
Cisplatin (pozitif kontrol)	2.6	14.0	54.3
Bileşik 7	3.6	9.2	68.4
Bileşik 10	4.3	11.0	65.2

MCF-7 hücreleri bileşiklerin ve cisplatin'in IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat kültür edildi. Her örnek için 10.000 hücre analiz edildi ve kuadran analizi uygulandı



Şekil 5.7. Bileşiklerin MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Apoptotik Etkileri

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, 5-kloro-6-metoksi-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on bileşiği *para*-süstitüe benzaldehit türevleri ile bazik ortamda oda sıcaklığında reaksiyona sokularak gerçekleşen Claisen-Schmidt kondenzasyonu neticesinde 10 adet yeni 5-kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on türevi bileşik sentezlenmiştir. Bileşiklerin saflıkları İTK ile kontrol edilmiştir. Bu bileşiklerin

kimyasal yapıları; elementel analiz, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektroskopisi teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanser hücresi ve HeLa insan serviks kanser hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Tüm bileşikler içinde **7** no'lu bileşik HeLa hücrelerinde pozitif kontrol olan cisplatinden daha yüksek ($IC_{50}= 16.0\pm 1.73 \mu M$), ve MCF-7 hücrelerinde cisplatine benzer ($IC_{50}= 13.0\pm 1.00 \mu M$) sitotoksik etkinliğe sahip olması ve normal fibroblast hücrelerine karşı düşük ($IC_{50}= 55.0\pm 8.66 \mu M$) sitotoksikite göstermesi nedeniyle en yüksek antikanser etkinliğe sahip bileşik olarak düşünülmektedir. Ayrıca **2, 3, 4, 5** ve **6** no'lu bileşikler de sitotoksik aktiviteye sahip bileşikler olarak bulunmuştur.

Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanser hücresi ve HeLa insan serviks kanser hücresi dizilerine karşı DNA sentez hızının ölçülmesine dayalı antikanser etkileri BrdU kiti kullanılarak araştırılmıştır. BrdU testi ile **3** ve **6** no'lu bileşiklerin yüksek dozlarda DNA sentezi inhibisyonu etkilerinin HeLa hücrelerinde diğer bileşiklere kıyasla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. **3** No'lu bileşiğin 800 μM dozunun DNA sentez inhibisyon etkisi cisplatinden daha fazla bulunmuştur.

MCF-7 hücrelerinde ise **10** no'lu bileşiğin diğer bileşiklere kıyasla MCF-7 hücrelerinde daha fazla DNA sentezi inhibisyonuna neden olduğu görülmüştür. Sonuçlara bakıldığında bileşiklerin her iki hücre tipinde de doza bağımlı olarak antiproliferatif etkiler gösterdikleri görülmektedir. Ancak **3** no'lu bileşik sadece HeLa hücreleri için daha fazla DNA sentezi inhibisyonuna neden olurken, **10** no'lu bileşik MCF-7 hücreleri üzerine daha fazla DNA sentez inhibisyonuna neden olmuşlardır.

Önemli sitotoksik etki gösteren bileşiklerin MCF-7 insan meme kanser hücresi ve HeLa insan serviks kanser hücresi dizilerine karşı apoptotik etkileri flow sitometrede belirlenmiştir. Apoptotik mekanizmanın araştırılması amacıyla, HeLa hücreleri **2, 3, 4, 5, 6** ve **7** no'lu bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. **2** (%53.1) no'lu bileşik HeLa hücrelerinde en apoptotik orana sahip bulunurken, **3** (%15.2) no'lu bileşik daha az apoptotik etkiye sahip bulunmuştur. MCF-7 hücreleri **7** ve **10** no'lu bileşiklerin IC_{50} konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. **7** (%12.8) ve **10** (%15.3) no'lu bileşikler MCF-7 hücrelerinde apoptotik etki göstermişlerdir.

HeLa hücreleri üzerinde Kaspaz 3 aktivitesinin de araştırılması amacıyla **2** ve **3** no'lu bileşiklerin IC₅₀ konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilmişler ve akım sitometrisi ile analiz edilmişlerdir. **2** No'lu bileşik (%72.9) en fazla kaspaz 3 aktivitesi göstermiştir. Ayrıca **3** no'lu bileşik (%3.7) HeLa hücrelerinde cisplatine benzer kaspaz 3 aktivitesi göstermiştir.

Apoptotik aktivite çalışmaları sonucunda **2** no'lu bileşik HeLa hücrelerine karşı en aktif bileşik olarak tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında, **2** no'lu bileşiğin daha ileri testlere tabi tutulması ve **2** no'lu bileşiğin farklı hücre dizilerine karşı da antikanser aktivitesinin araştırılması yararlı olacaktır.

Sentezi gerçekleştirilen 5-kloro-6-metoksi-2-[4-(süstitüe)benziliden]-2,3-dihidro-1*H*-inden-1-on türevleri arasında, benziliden grubuna *para* konumundan yapılan dimetilamin ve dietilamin süstitüsyonlarının HeLa kanser hücrelerine karşı etkin bir antikanser aktiviteye neden oldukları tespit edilmiştir. Daha sonra yapılacak sentez çalışmalarında, *para* konumuna farklı amin grubu süstitüentleri taşıyan grupların yerleştirilmesi ve bu türevlerin antikanser etkilerinin araştırılması gerçekleştirilebilir.

KAYNAKÇA

- Ballini, R., Bosica, G., Maggi, R., Ricciutelli, M., Righi, P., Sartori, G., Sartorio, R. (2001). Clay-catalysed Solventless Synthesis of *Trans*-Chalcones. *Green Chem.*, 3, 178–180.
- Bansal, R., Narang, G., Zimmer, C., Hartmann, R.W. (2011). Synthesis of some imidazolyl-substituted 2-benzylidene indanone derivatives as potent aromatase inhibitors for breast cancer therapy. *Med. Chem. Res.*, 20, 661-669.
- Basnet, A., Thapa, P., Karki, R., Na, Y., Jahng, Y., Jeong, B.S., Jeong, T.C., Lee, C.S., Lee, E.S. (2007). 2,4,6-Trisubstituted Pyridines: Synthesis, Topoisomerase I and II Inhibitory Activity, Cytotoxicity, and Structure–Activity Relationship. *Bioorg. Med. Chem.*, 15, 4351-4359.
- Beyhan, N. (2011). *Bazı yeni şalkonları ve bunlardan türeyen 2-pirazolin türevlerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi.
- Boumendjel, A., Beney, C., Deka, N., Mariotte, A.M., Lawson, M.A., Trompier, D., Baubichon-Cortay, H., Pietro, A.D. (2002). 4-Hydroxy-6-Methoxyaurones With High-Affinity Binding To Cytosolic Domain Of P-Glycoprotein. *Chem. Pharm. Bull.*, 50(6), 854-856.
- Brown, V., Sridhar, T., Symonds, R.P. (2011). Principles of Chemotherapy and Radiotherapy. *Obstet. Gynaecol. Reprod. Med.*, 21, 339-345.
- Caley, A., Jones, R. (2012). The Principles of Cancer Treatment By Chemotherapy, Surgery. 30, 186–190.
- Cheng, H., Zhang, L., Liu, Y., Chen, S., Cheng, H., Lu, X., Zheng, Z., Zhou, G.C. (2010). Design, synthesis and discovery of 5-hydroxyaurone derivatives as growth inhibitors against HUVEC and some cancer cell lines. *Eur. J. Med. Chem.*, 45, 5950-5957.
- Chimenti, F., Fioravanti, R., Bolasco, A., Manna, F., Chimenti, P., Secci, D., Rossi, F., Turini, P., Ortuso, F., Alcaro, S., Cardia, M.C. (2008). Synthesis, Molecular Modeling Studies and Selective Inhibitory Activity Against MAO of N1-Propanoyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1*H*)-Pyrazole Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 43, 2262-2267.

- Demirayak, S., Yurttas, L., Gundogdu-Karaburun, N., Karaburun, A.C., Kayagil, I. (2015). Synthesis and anti-cancer activity evaluation of new aurone derivatives. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 30(5), 816–825.
- Engi, H., Gyémán, N., Lóránd, T., Lévai, A., Ocsovszki, Imre, M.J. (2006). Cinnamylidene Ketones as Potential Modulators of Multidrug Resistance in Mouse Lymphoma and Human Colon Cancer Cell Lines. *in vivo*, 20, 119-124.
- Evranoş, B. (2010). *Yeni bazı flavonoid türevlerinin sentezi, kimyasal yapılarının aydınlatılması ve monoamin oksidaz enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi.
- Gezegen, H. (2006). *Bazı kalkon türevlerinin sentezi ve reaksiyonlarının araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Tokat: Gazi Osman Paşa Üniversitesi.
- Gundogdu-Karaburun, N., Karaburun, A.C., Demirayak, S., Kayagil, I., Yurttas, L. (2014). Synthesis and Anticancer Activity of Some 2-[3/4-(2-Substituted Phenyl-2-oxoethoxy)benzylidene]-6-substituted-2,3-dihydro-1H-inden-1-one Derivatives. *Lett. Drug Des. Discov.*, 11(5), 578-585.
- Heynick, L.N., Johnston, S.A., Mason, P.A. (2003). Radio Frequency Electromagnetic Fields: Cancer, Mutagenesis, and Genotoxicity, *Bioelectromagnetics*, S6, 74-100.
- Hu, J., Yan, J., Chen, J., Pang, Y., Huang, L., Li, X. (2015). Synthesis, biological evaluation and mechanism study of a class of benzylideneindanone derivatives as novel anticancer agents. *Med. Chem. Commun.*, 6, 1318.
- Huang, W.H., Chien, P.Y., Yang, C.H., Lee, A.R. (2003). Novel synthesis of flavonoids of scutellaria baicalensis GEORGI. *Chem. Pharm. Bull.*, 51(3), 339-340.
- Jahng, Y., Zhao, L.X., Moon, Y.S., Basnet, A., Kim, E.K., Chang, H.W., Ju, H.K., Jeonga, T.C., Lee, E.S. (2004). Simple Aromatic Compounds Containing Propenone Moiety Show Considerable Dual COX/5-LOX Inhibitory Activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 2559-2562.
- Kamboj, R.C., Sharma, G., Kumar, D., Arora R., Sharma C., Aneja K.R., (2011). An Environmentally Sound Approach for The Synthesis of Some Flavanones and Their Antimicrobial Activity. *Int. J. ChemTech Res.*, 3-2.
- Kimberly, A.B., Kumar, R.B., Kumar, A.B., Kumar, B.M., Poulomi, M., Vijay, S., Mia, S., Samuel, T., Megan, L., Matthias, Z., Andrew, J.R., Susan, M., Hari, P., Moses, L. (2012). Design, Synthesis and Cytotoxicity of Novel Chalcone Analogs Derived

- from 1-Cyclohexylpyrrolidin-2-one and 2,3-Dihydrobenzo[f]chromen-1-one. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 345, 341-348.
- Kreher, U.P., Rosamilia, A.E., Raston, C.L., Scott, J.L., Strauss, C.R. (2003). Direct Preparation of Monoarylidene Derivatives of Aldehydes and Enolizable Ketones with DIMCARB. *Org. Lett.*, 5-17.
- Kutluk, T. ve Kars, A. (1992). *Kanser Konusunda Genel Bilgiler*. Ankara: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı.
- Lawrence, N.J., Rennison, D., McGown, A.T., Hadfield, J.A. (2003). The Total Synthesis of an Aurone Isolated from *Uvaria Hamiltonii*: Aurones and Flavones as Anticancer Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, 3759–3763.
- Lee, I.S.H., Jeon, H.J., Yu, J.S., Lee, C.K. (2010). Substituent Chemical Shifts of (*E*)-1-Aryl-3-Thienylpropen-1-Ones. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 31-6.
- Limisale, Y.D.P. (2015). *Celecoxib Delivery With Epidermal Growth Factor Receptor-Targeted Immunoliposomes For Cancer Therapy*. Master Thesis, Ankara: Middle East Technical University.
- Macquarrie, D.J., Nazih, R., Sebt, S. (2002). KF/natural phosphate as an efficient catalyst for synthesis of 2'-hydroxychalcones and flavanones. *Green Chem.*, 4, 56–59.
- Magda, F.M., Mervat, S.M., Mohamed, M.F., Samia, A.S., Ismail, A.A. (2014). Chalcones Incorporated Pyrazole Ring Inhibit Proliferation, Cell Cycle Progression, Angiogenesis and Induce Apoptosis of MCF7 Cell Line. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 14, 1282-1292.
- Marques, C.S., Ramalho, J.P.P., Burke, A.J. (2009). The Benzilic Ester Rearrangement: Synthesis of Labelled Compounds and Theoretical Studies. *J. Phys. Org. Chem.*, 22, 735–739.
- Mathur, G., Nain, S., Sharma, P.K. (2015). Cancer: An Overview, *Academic J. Cancer Res.*, 8 (1), 01-09.
- Mohamed, F.M., Mohamed, S.M., Shouman, A.S., Fathi, M.M., Abdelhamid, A.I. (2012). Synthesis and biological evaluation of a novel series of chalcones incorporated pyrazole moiety as anticancer and antimicrobial agents. *Applied Biochem. Biotech.* 168, 1153-1162.

- Montes-Avila, J., Díaz-Camacho, S.P., Sicairos-Félix, J., Delgado-Vargas, F., Rivero, I., A. (2009). Solution-Phase Parallel Synthesis of Substituted Chalcones and Their Antiparasitary Activity Against Giardia Lamblia. *Bioorg Med. Chem.*, 17-6780-6785.
- Nepali, K., Sharma, S., Sharma, M., Bedi, P.M.S., Dhar, K.L. (2014). Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrid. *Eur. J. Med. Chem.*, 77, 422-487.
- Nugiel, D.A., Vidwans, A., Etzkorn, A.M., Rossi, K.A., Benfield, P.A., Burton, C.R., Cox, S., Doleniak, D., Seitz, S.P. (2002). Synthesis and Evaluation of Indenopyrazoles as Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors. 2. Probing the Indeno Ring Substituent Pattern. *J. Med. Chem.*, 45, 5224-5232.
- Özdemir, A., Altıntop, M.D., Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Akalın, Çiftçi, G., (2013). Ulusoylar Yıldırım Ş., Synthesis of 1-acetyl-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of their anticancer activity. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 28(6), 1221-1227.
- Peppe, C., Chagas, R.P., Burrow, R.A. (2008). Indium (I) Bromide-Promoted Stereoselective Preparation of Cyclopropanes via Sequential Aldol-Type Coupling/Elimination/Michael-Induced Ring Closure Reaction from α,α -Dichloroacetophenone and Aldehydes. *J. Organometallic Chem.* 693, 3441–3445.
- Perozo-Rondon, E., Martín-Aranda, R.M., Casal, B., Duran-Valle, C.J., Lau, W.N., Zhang, X.F., Yeung, K.L. (2006). Sonocatalysis in Solvent Free Conditions: An Efficient Eco-Friendly Methodology to Prepare Chalcones Using A New Type of Amino Grafted Zeolites. *Catalysis Today*, 114, 183–187.
- Petrov, O., Ivanova, Y., Gerova, M. (2008). $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$: Catalytic system for synthesis of of chalcones. *Catalysis Communications*, 9, 315–316.
- Prakasham, A.P., Saxena, A., K., Luqman, S., Chanda, D., Kaur, T., Gupta, A., Yadav, D.K., Chanotiya, C.S., Karuna, S., Khan, F., Negi, A.S. (2012). Synthesis and anticancer activity of 2-benzylidene indanones through inhibiting tubulin polymerization. *Bioorg. Med. Chem.*, 20, 9, 3049–3057.
- Qian, Y., Ma, G.Y., Yang, Y., Cheng, K., Zheng, Q.Z., Mao, W.J., Shi L., Zhao J., Zhu H.L. (2010). Synthesis, Molecular Modeling and Biological Evaluation of

- Dithiocarbamates as Novel Antitubulin Agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 4310-4316.
- Rebucci, M., Michiels, C. (2013). Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy. *Biochem. Pharmacol.*, 85, 1219-1226.
- Sahu N.K., Balbhadra S.S., Choudhary J., Kohli, D.V. (2012). Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review. *Curr. Med. Chem.* 19, 209-225.
- Sarda, S.R., Jadhav, W.N., Bhusare, S.R., Wasmatkar, S.K., Dake, S.A., Pawar, R.P. (2009). Solvent-free NaOH-Al₂O₃ supported synthesis of 1,3-diaryl-2-propene-1-ones. *Int. J. Chem Tech Research*, 1, 265-269.
- Sebti, S., Solhy, A., Tahir, R., Boulaajaj, S., Mayoral, J.A., Fraile, J.M., Kossirc, A., Oumimoun, H. (2001). Calcined Sodium Nitrate/Natural Phosphate: An Extremely Active Catalyst for The Easy Synthesis of Chalcones in Heterogeneous Media. *Tetrahedron Lett.*, 42, 7953–7955.
- Selvakumar, N.G., Kumar, S., Azhagan, A.M., Rajulu, G.G., Shikha, S., Kumar, M.S., Jagattaran, D., Javed, I., Sanjay, T. (2007). Synthesis, SAR and antibacterial studies on novel chalcone oxazolidinone hybrids. *Eur. J. Med. Chem.*, 42, 538-543.
- Şenel, F., Çırakoğlu, B. (2003). *Yeni Ufuklara Kanserle Savaş*, Bilim ve Teknik Dergisi, Tübitak, Şubat.
- Sever, B. (2015). *Yeni triazolotiyadiazin türevlerinin sentezi ve biyolojik etki çalışmaları*, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- Sim, H.M., Lee, C.Y., Ee, P.L.R., Go, M.L. (2008). Dimethoxyaurones: Potent inhibitors of ABCG2 (breast cancer resistance protein). *Eur. J. Pharm. Sci.*, 35 293-306.
- Singh, A., Fatima, K., Singh, A., Behl, A., Minto, M.J., Hasanain, M., Ashraf, R., Luqman, S., Shanker, K., Mondhe, D.M., Sarkar, J., Chandan, D., Negi, A.S. (2015). Anticancer activity and toxicity profiles of 2-benzylidene indanone lead Molecule. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 76, 57-67.
- Solomons, T.W.G., Fryhle, C.B. (2002). *Organik Kimya 7*. Baskıdan Çeviri. Literatür Yayınları, 783-785.
- Starcevic, S., Turka, S., Brusa, B., Cesara, J., Riznerb, T.L., Gobeca, S. (2011). Discovery of highly potent, nonsteroidal 17-β hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors

- by virtual high-throughput screening. *J. S. Biochem. Molecular Biology* 127 255-261.
- Suzuki, K., Okawara, T., Higashijim, T., Yokomizo, K., Mizushima, T., Otsuka, M. (2005). Inhibitory Activities Against Topoisomerase I and II By Isoaurostatin Derivatives and Their Structure–Activity Relationships. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 2065–2068.
- Symonds, K.J., Good, P., Harrington, D.J. (2013). Advances in Clinical Radiobiology. *Clin. Oncol.*, 25, 10, 567-568.
- Thirunarayanan, G., Gopalakrishnan, M., Vanangamudi, G. (2007). IR and NMR spectral studies of 4-bromo-1-naphthyl chalcones-assessment of substituent effects. *Spectrochimica Acta*, 67, 1106–1112.
- Vaclavíková, R., Boumendjel, A., Ehrlichová, M., Kovar, J., Guta, I. (2006). Modulation of Paclitaxel Transport by Flavonoid Derivatives In Human Breast Cancer Cells. Is There A Correlation Between Binding Affinity to NBD of P-gp and Modulation of Transport?, *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 4519–4525.
- Varache-Lembège, M., Moreau, S., Larrouture, S., Montaudon, D., Robert, J., Nuhrich, A. (2008). Synthesis and antiproliferative activity of aryl- and heteroaryl-hydrazones derived from xanthone carbaldehydes. *Eur. J. Med. Chem.*, 43, 1336-1343.
- Wang H.K., Xia Y., Yang Z.Y., Morris N.S.L., Lee, K.H. (1998). Recent Advances in The Discovery and Development of Flavonoids and Their Analogues as Antitumor and Anti-HIV Agents. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 439, 191-225.
- Yokuş, B. ve Ülker, D.Ü. (2012). Kanser biyokimyası. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1(2), 7-18.

http-1 Küresel Eylem Planı 2013-2020, <http://kanser.gov.tr/bilgi-dokumanlar/kitaplar/1431-k%C3%BCresel-eylem-plan%C4%B1-2013-2020.html>

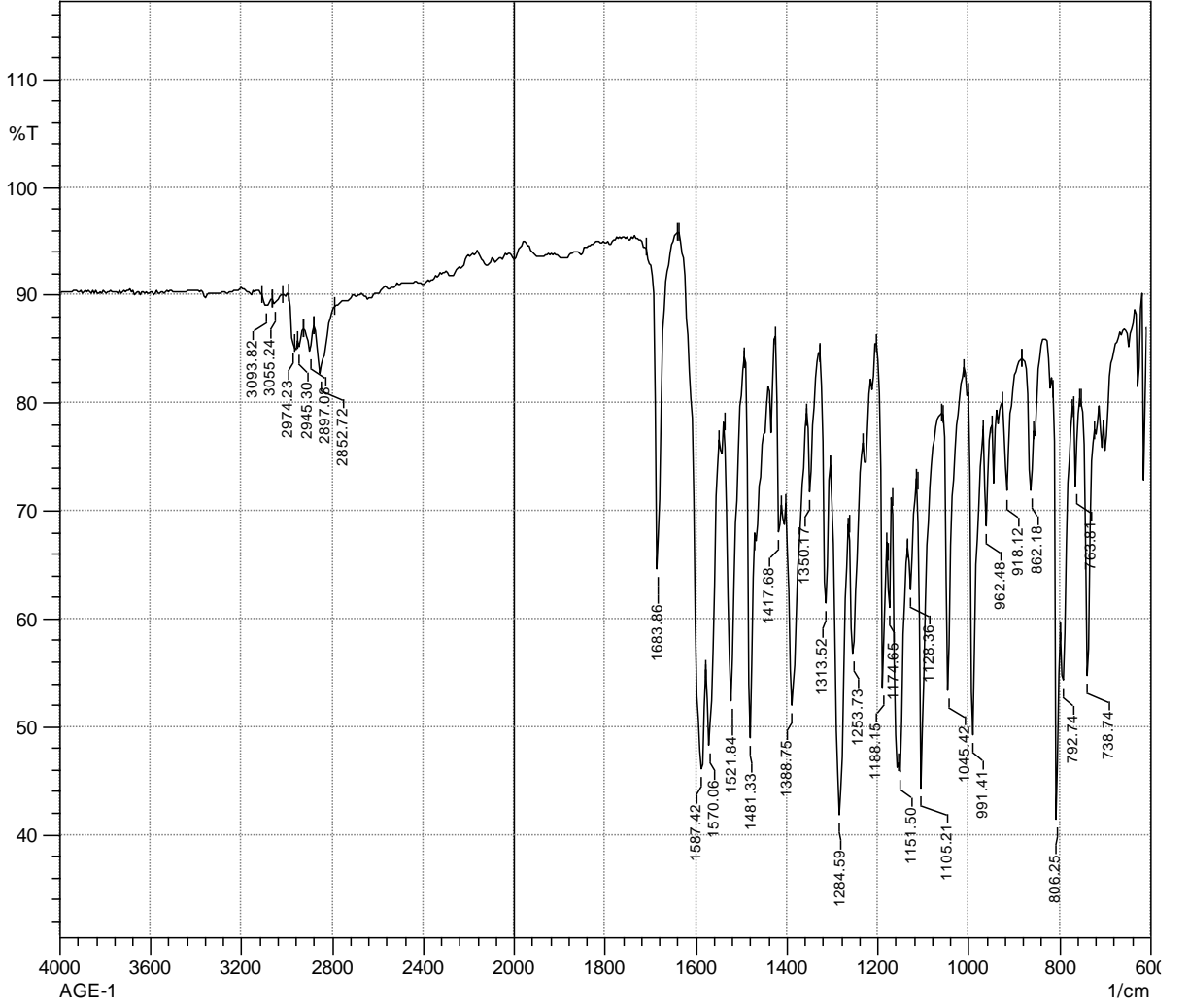
(Eriřim tarihi: 13.07.2016)

http-2 Türkiye Kanser Kontrol Programı 2016, <http://kanser.gov.tr/bilgi-dokumanlar/kitaplar/1864-türkiye-kanser-kontrol-programı-2016.html>

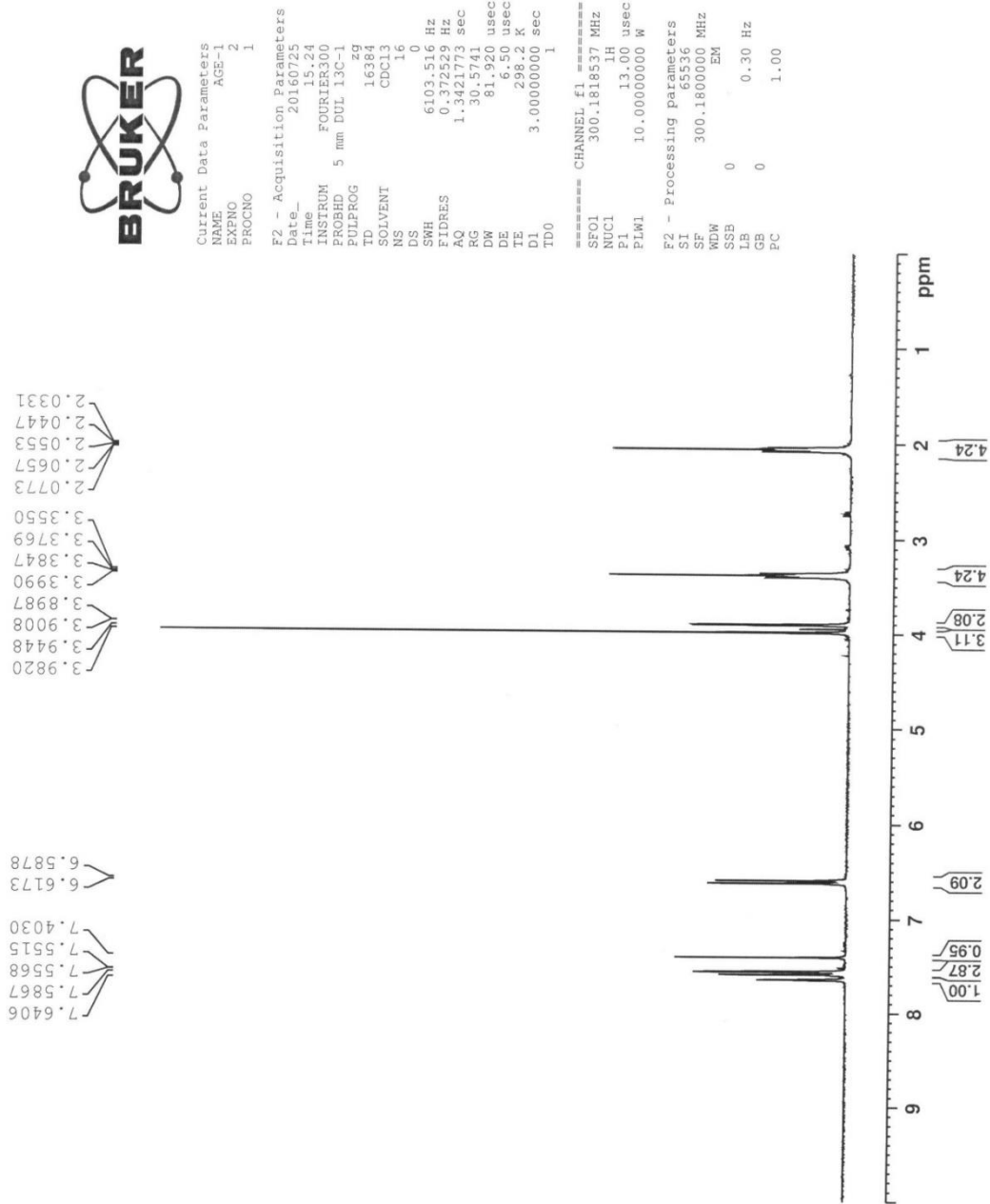
(Eriřim tarihi: 13.07.2016)

EKLER

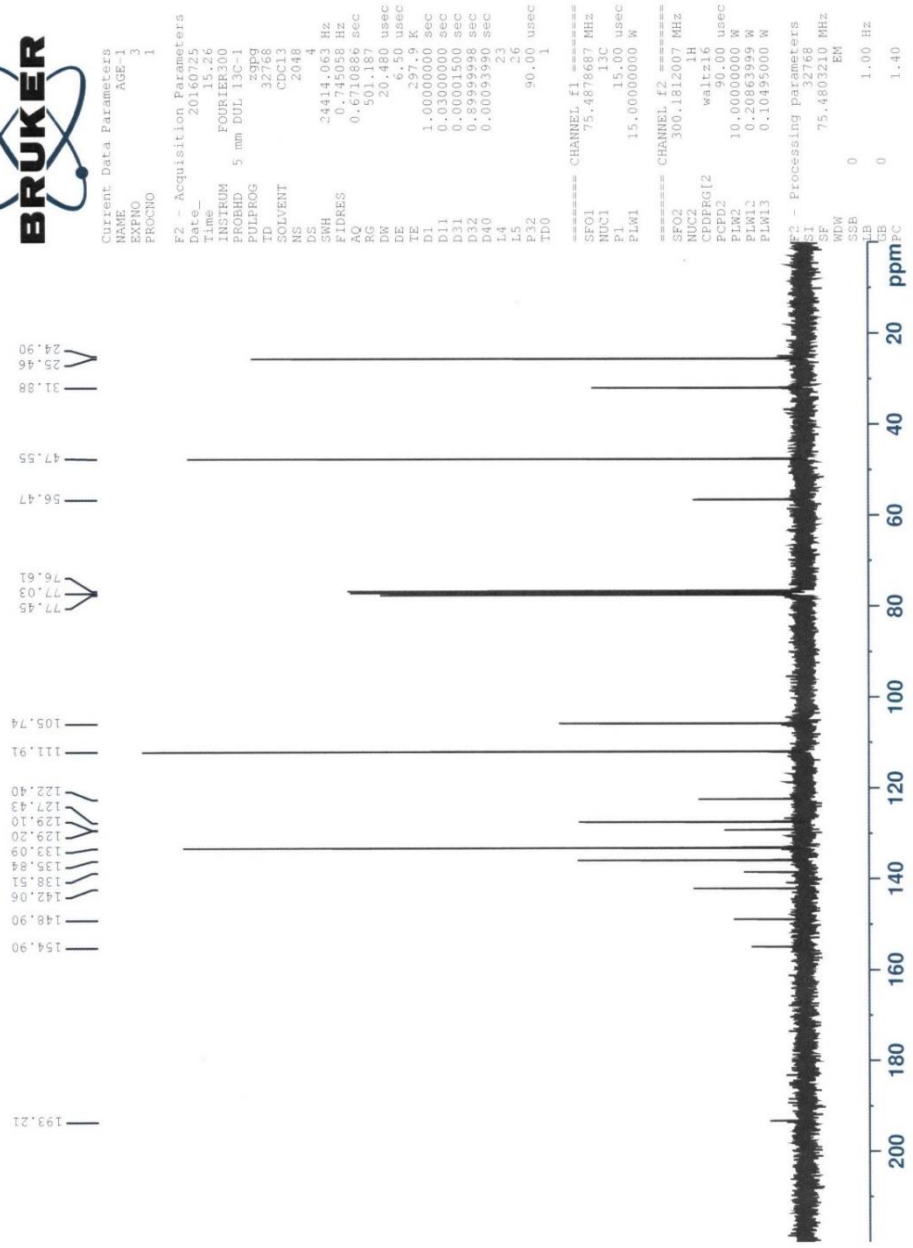
EK 1. Bileşik 1 için IR spektrumu



EK 2. Bileşik 1 için ¹H-NMR spektrumu (0-9 ppm)



EK 3. Bileşik 1 için ^{13}C -NMR spektrumu (20-200 ppm)



EK 4. Bileşik 1 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE1_1.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE1_1.lcd

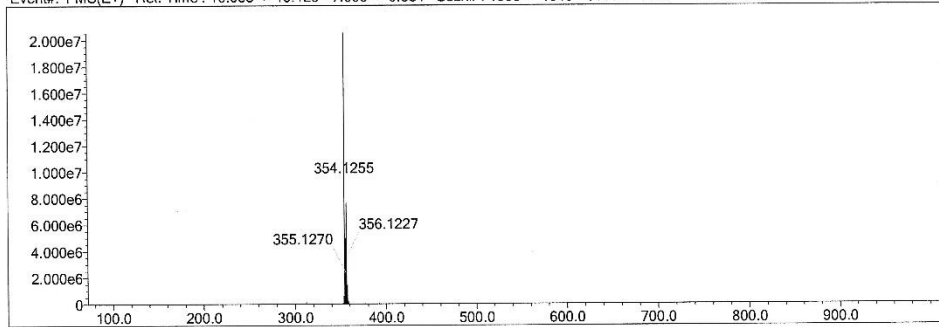
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	2	Cl	1	0	1	H
C	4	1	40	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

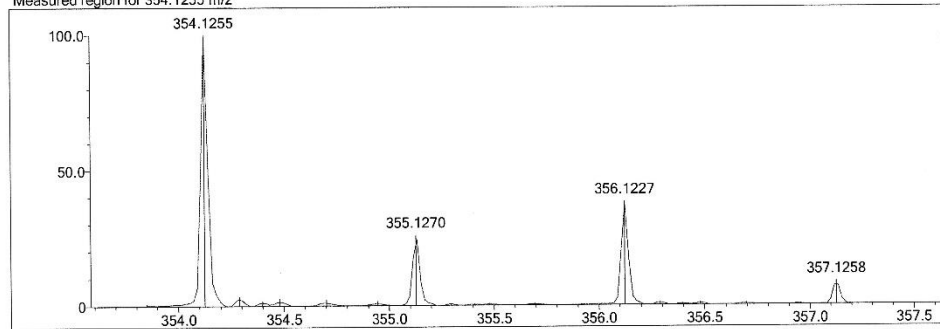
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

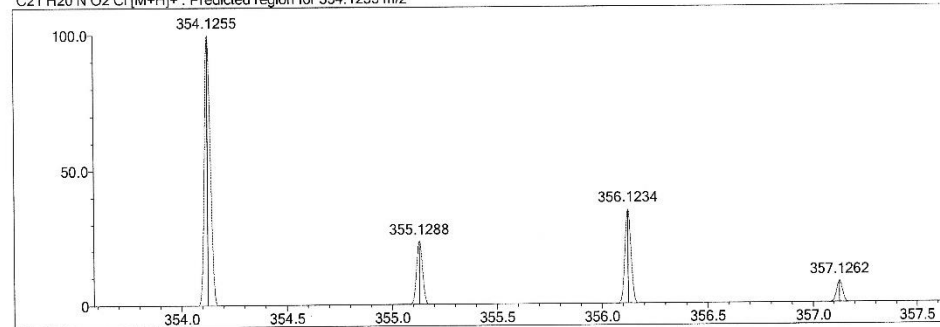
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 10.053 -> 10.120 - 7.600 -> 9.834 Scan#: 1509 -> 1519 - 1141 -> 1477



Measured region for 354.1255 m/z

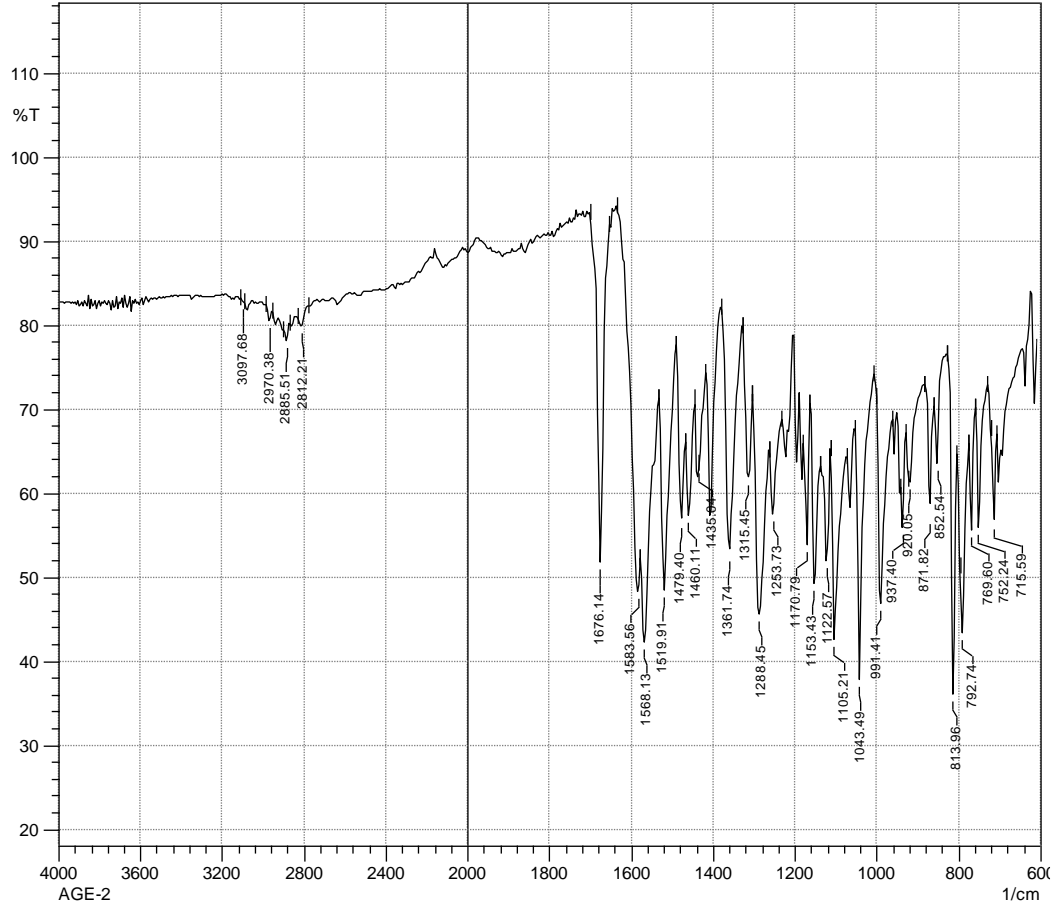


C21 H20 N O2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 354.1255 m/z

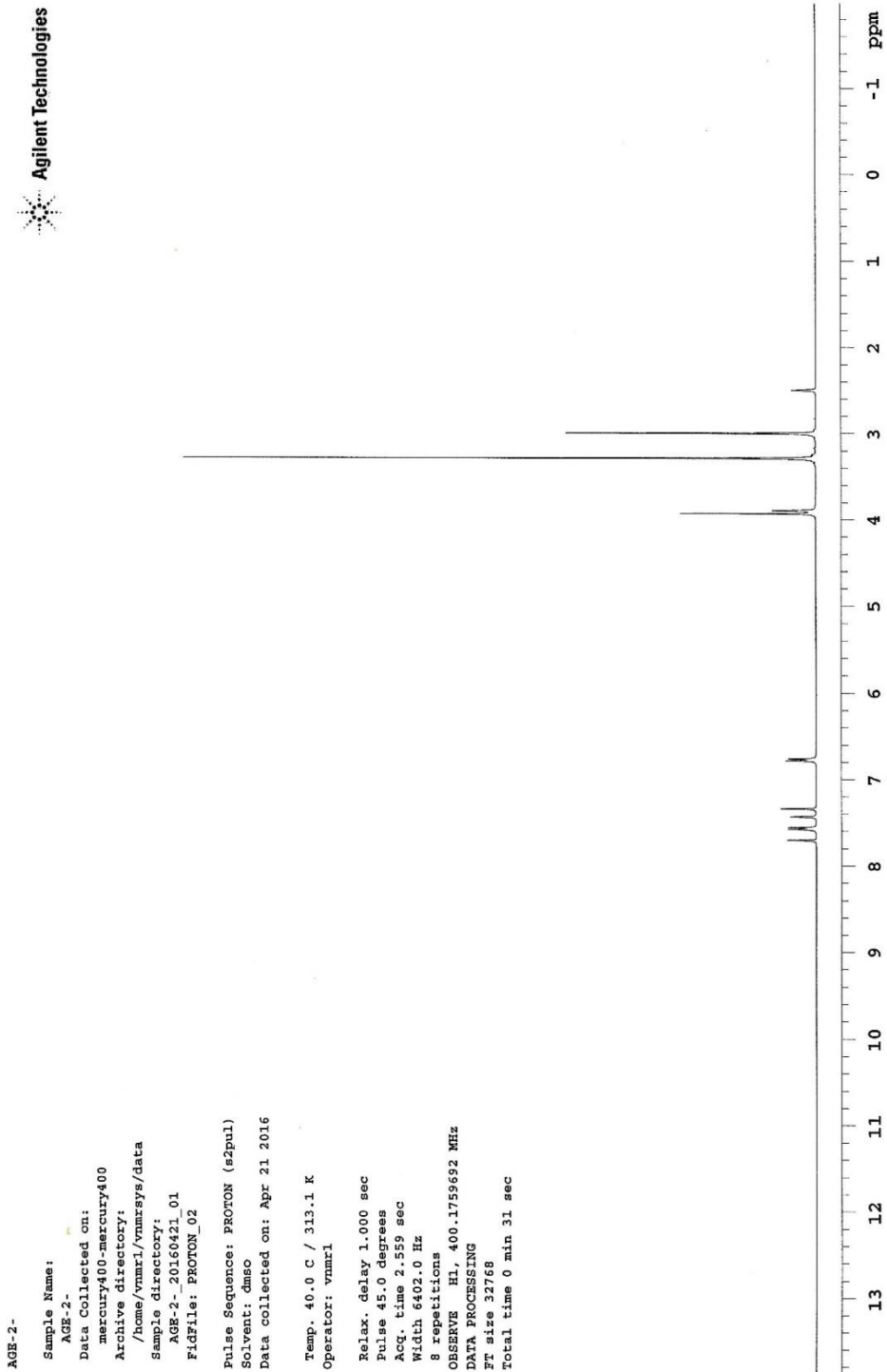


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	100.00	C21 H20 N O2 Cl	[M+H]+	354.1255	354.1255	-0.0	0.00	100.00	12.0

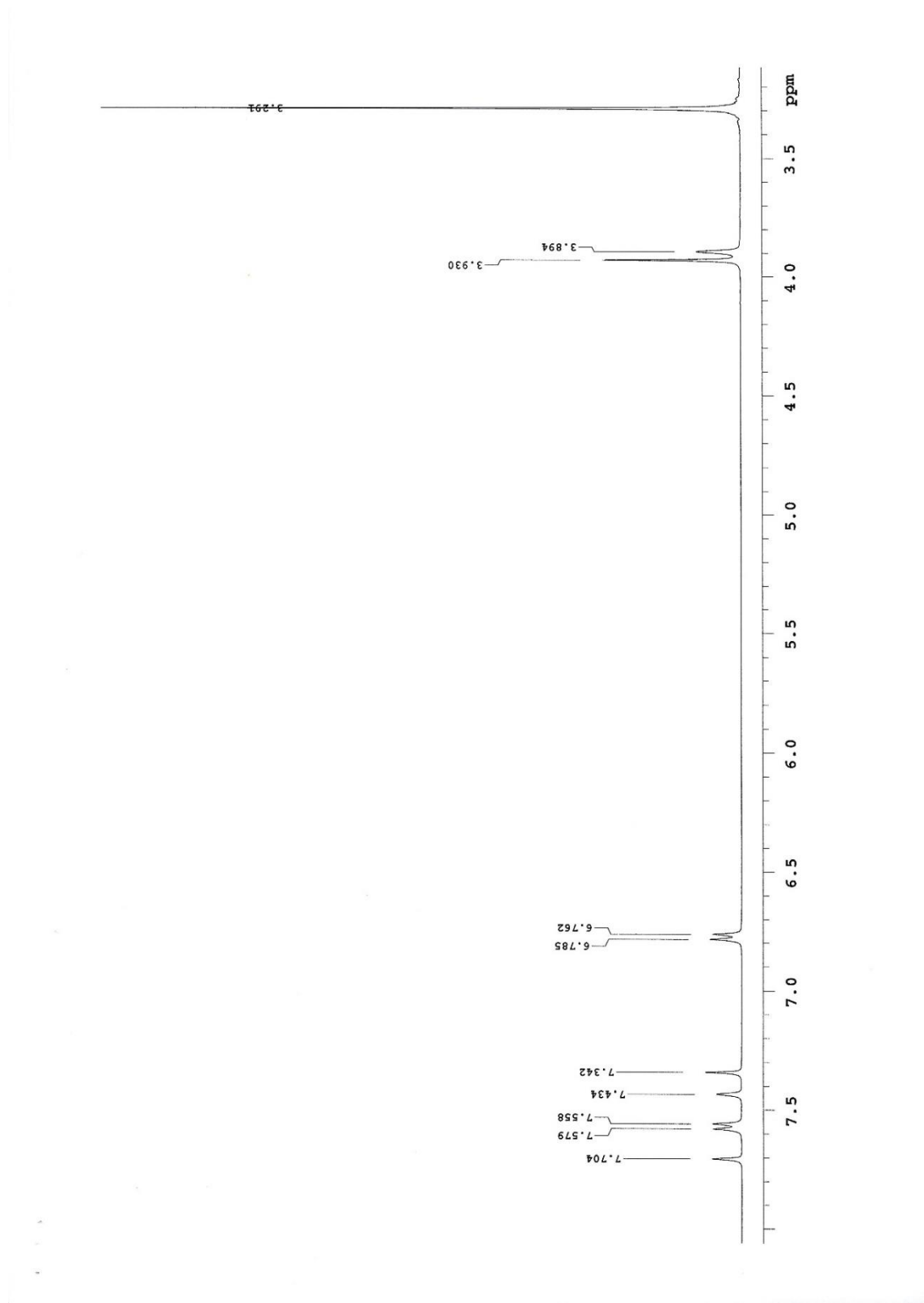
EK 5. Bileşik 2 için IR spektrumu



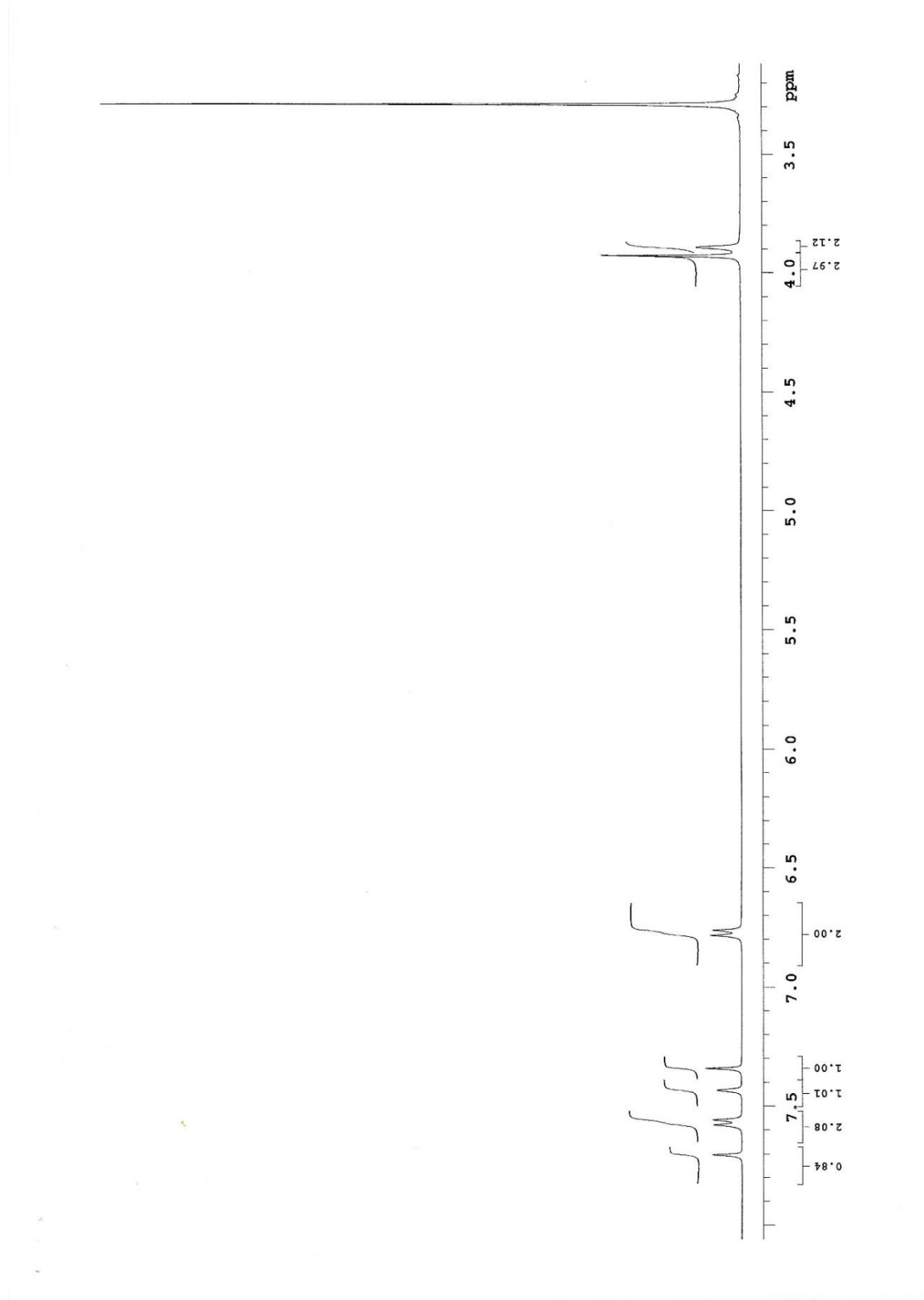
EK 6. Bileşik 2 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (0-13 ppm)



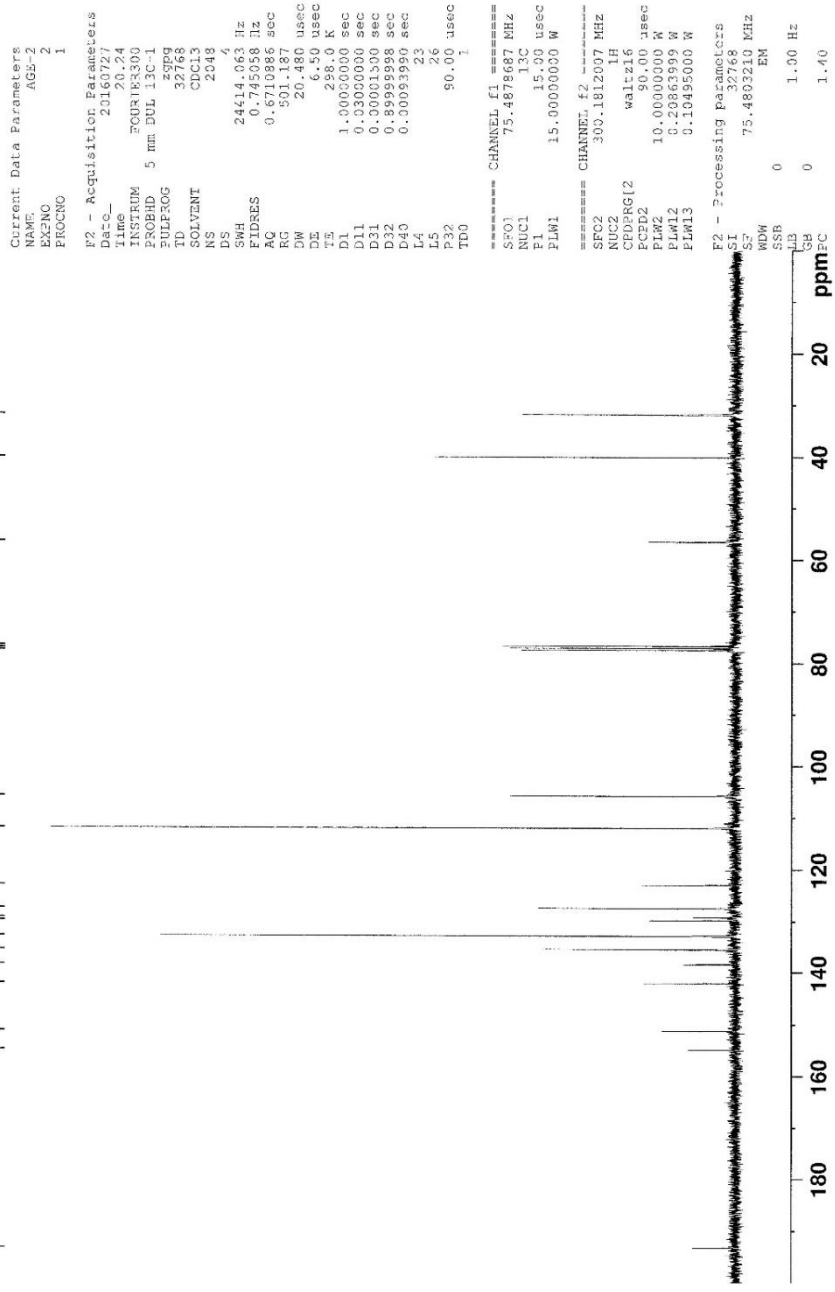
EK 7. Bileşik 2 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (3-8 ppm)



EK 8. Bileşik 2 için ^1H -NMR spektrumu (3-8 ppm)



EK 9. Bileşik 2 için ¹³C-NMR spektrumu (20-200 ppm)



EK 10. Bileşik 2 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE2_2.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE2_2.lcd

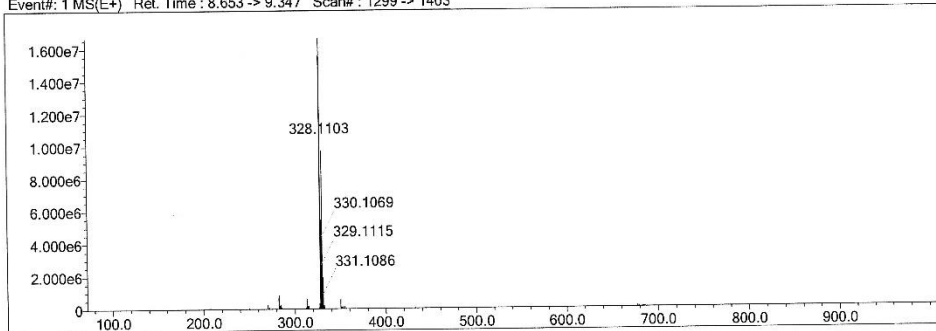
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	2	Cl	1	0	1	H
C	4	1	19	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

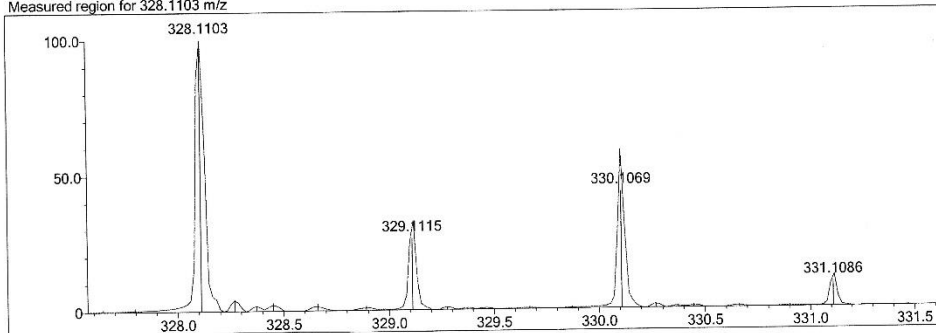
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

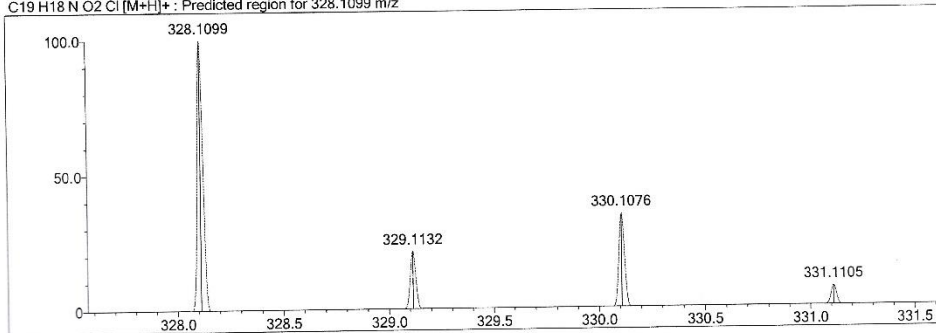
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.653 -> 9.347 Scan# : 1299 -> 1403



Measured region for 328.1103 m/z



C19H18NO2Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 328.1099 m/z



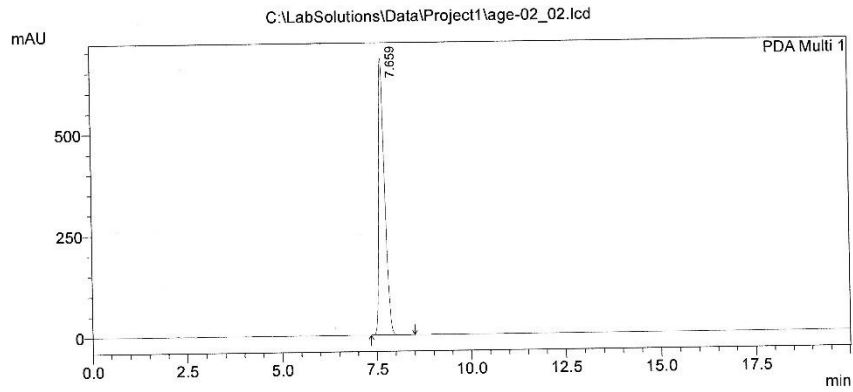
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	60.73	C19H18NO2Cl	[M+H] ⁺	328.1103	328.1099	0.4	1.22	61.06	11.0

EK 11. Bileşik 2 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-02_02.lcd
Acquired by : Admin
Sample Name : age-2
Sample ID :
Tray# : 1
Vial # : -1
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : age-02_02.lcd
Method File Name : 85acn15water.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 06.04.2016 11:41:55
Data Processed : 08.04.2016 13:21:38

<Chromatogram>

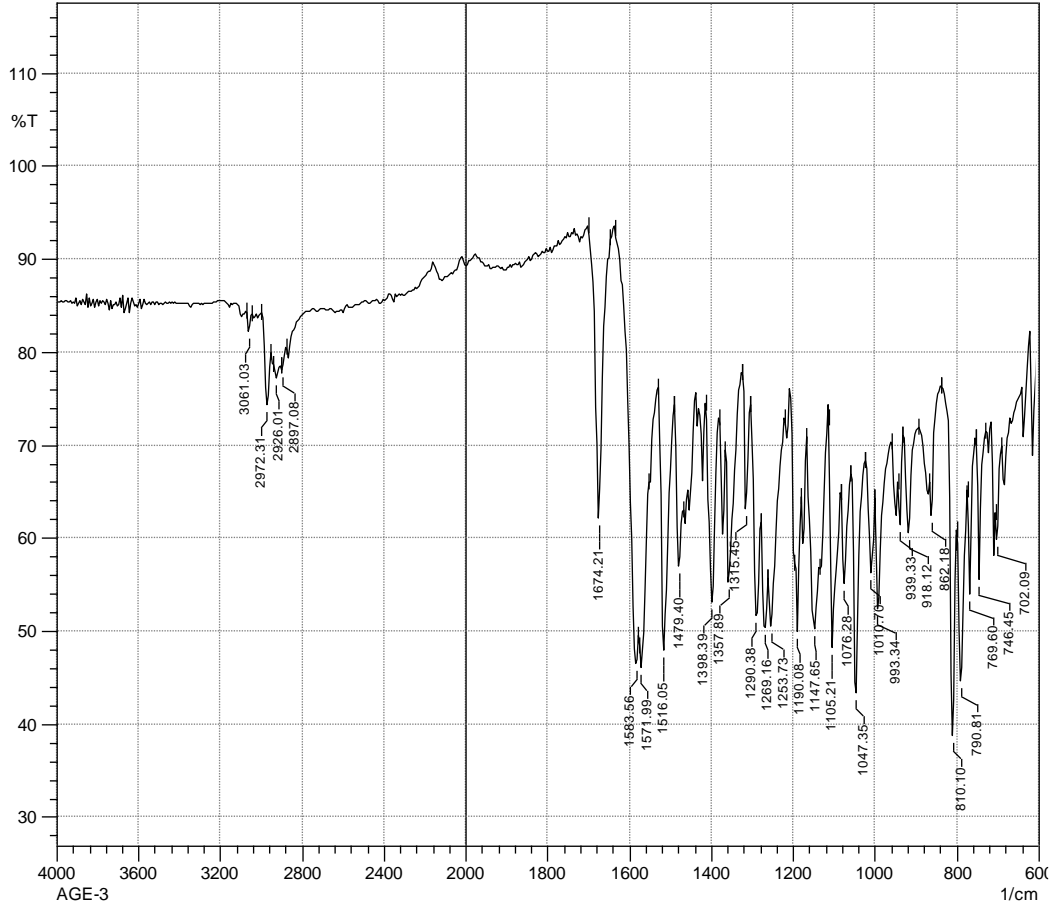


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

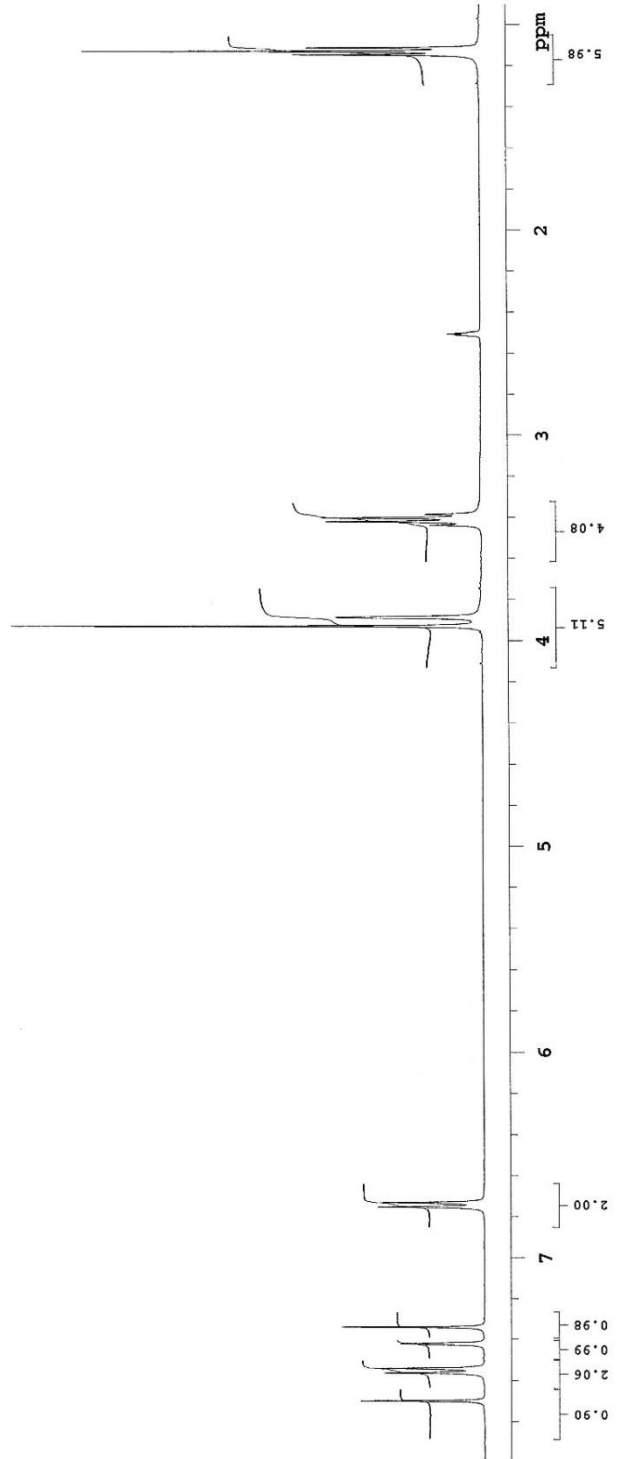
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	7.659	7459905	681515	100.000	100.000
Total		7459905	681515	100.000	100.000

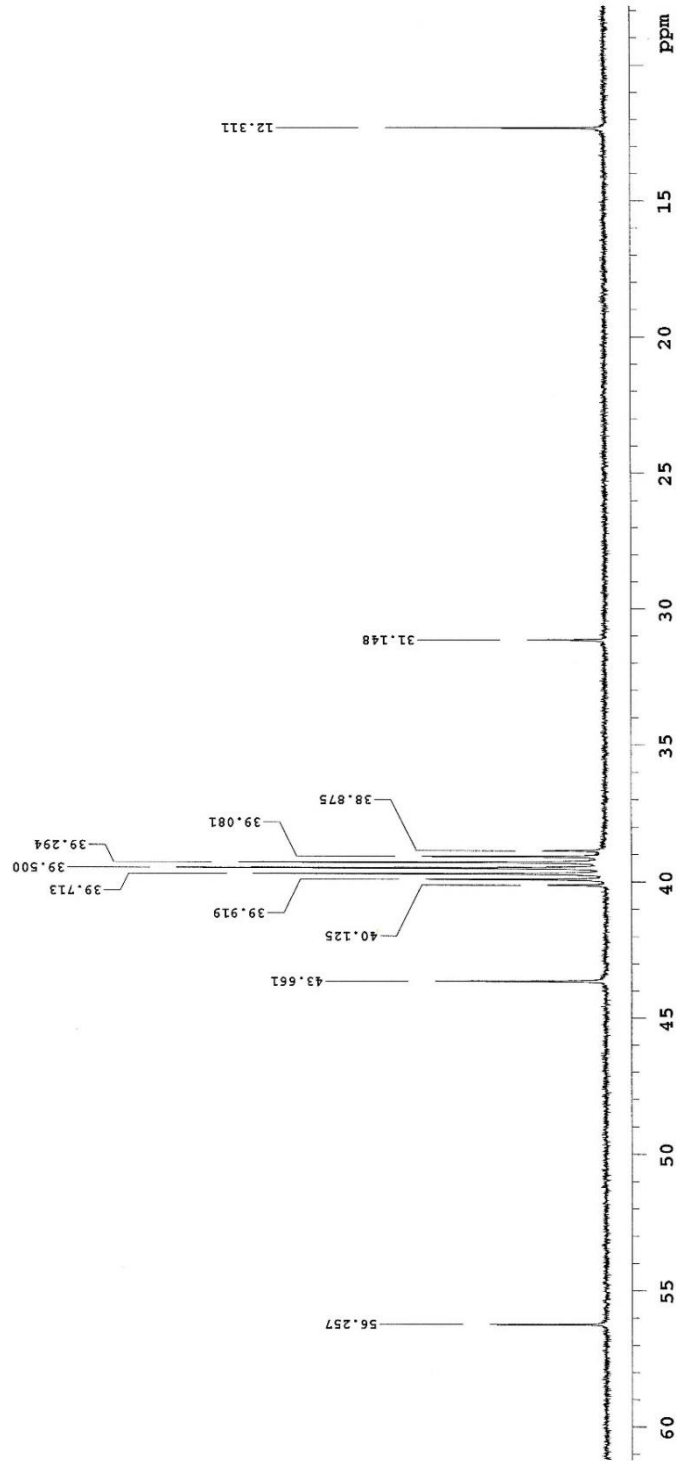
EK 12. Bileşik 3 için IR spektrumu



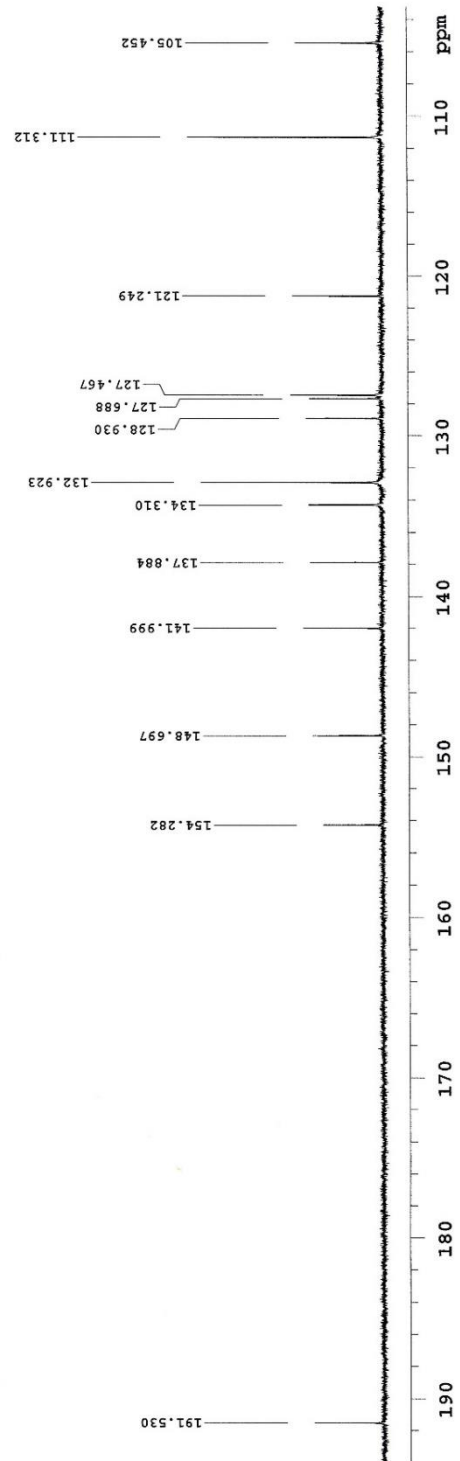
EK 13. Bileşik 3 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (1-10 ppm)



EK 14. Bileşik 3 için ^{13}C -NMR spektrumu (14-60 ppm)



EK 15. Bileşik 3 için ^{13}C -NMR Spektrumu (100-200 ppm)



EK 16. Bileşik 3 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE3_3.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE3_3.lcd

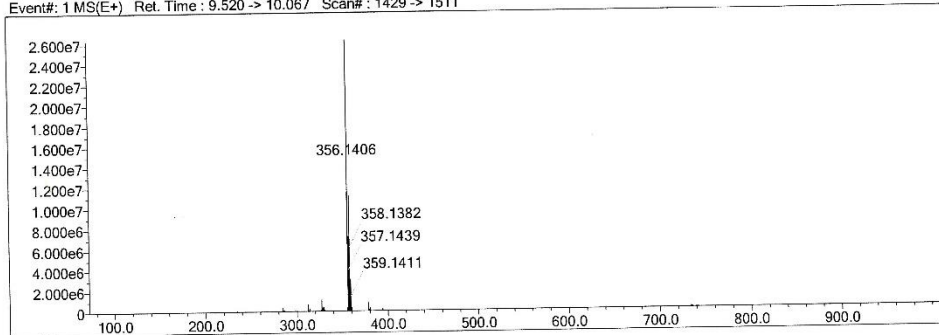
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	2	Cl	1	0	1	H
C	4	1	21	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

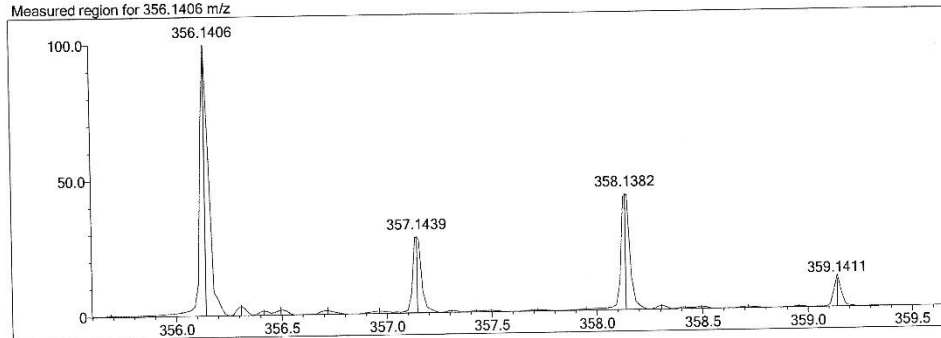
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

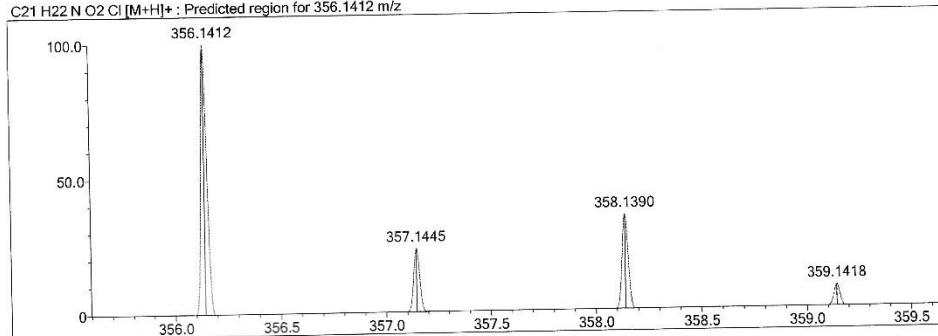
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 9.520 -> 10.067 Scan#: 1429 -> 1511



Measured region for 356.1406 m/z



C21 H22 N O2 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 356.1412 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	76.72	C ₂₁ H ₂₂ N O ₂ Cl	[M+H] ⁺	356.1406	356.1412	-0.6	-1.68	78.05	11.0

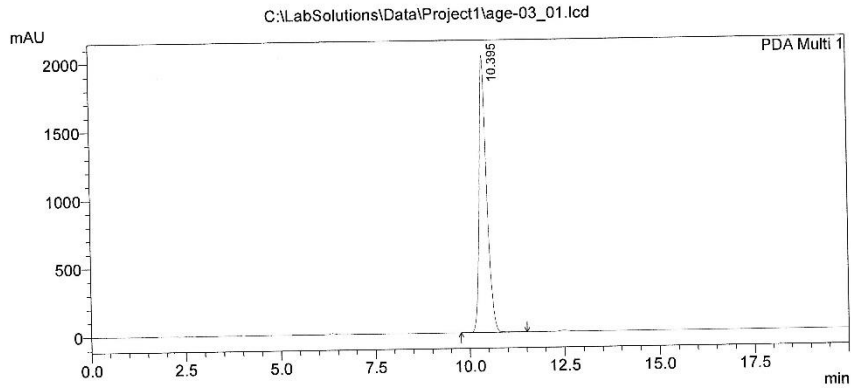
EK 17. Bileşik 3 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-03_01.lcd

Acquired by : Admin
 Sample Name : age-3
 Sample ID :
 Tray# : 1
 Vail # : -1
 Injection Volume : 20 uL
 Data File Name : age-03_01.lcd
 Method File Name : 85acn15water.lcm
 Batch File Name :
 Report File Name : Default.lcr
 Data Acquired : 06.04.2016 12:41:10
 Data Processed : 08.04.2016 13:23:19

<Chromatogram>

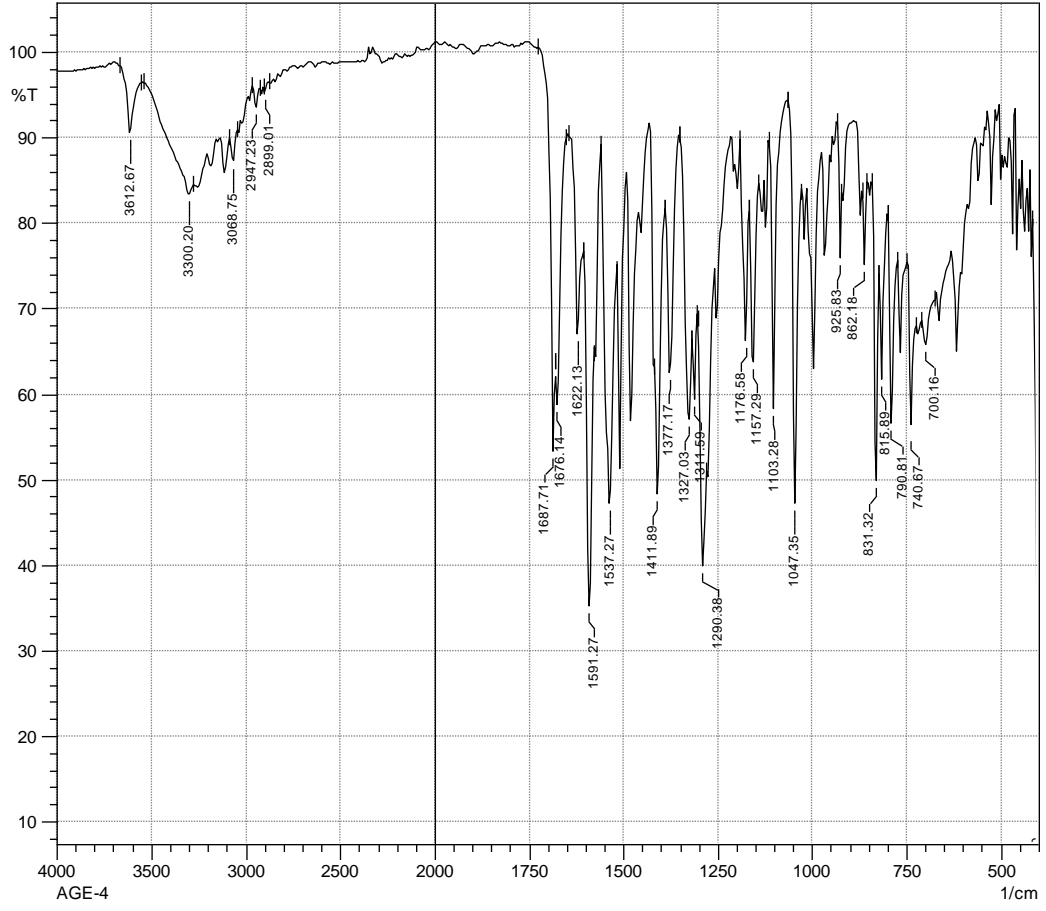


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

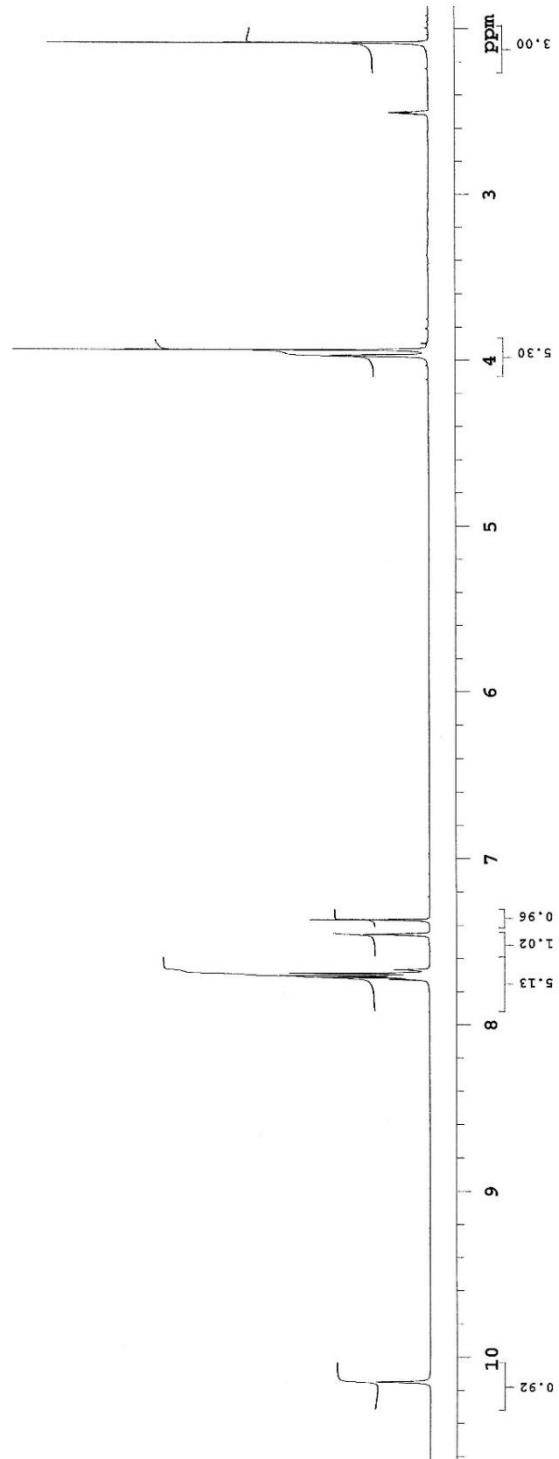
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Hcight %
1	10.395	28037442	2030793	100.000	100.000
Total		28037442	2030793	100.000	100.000

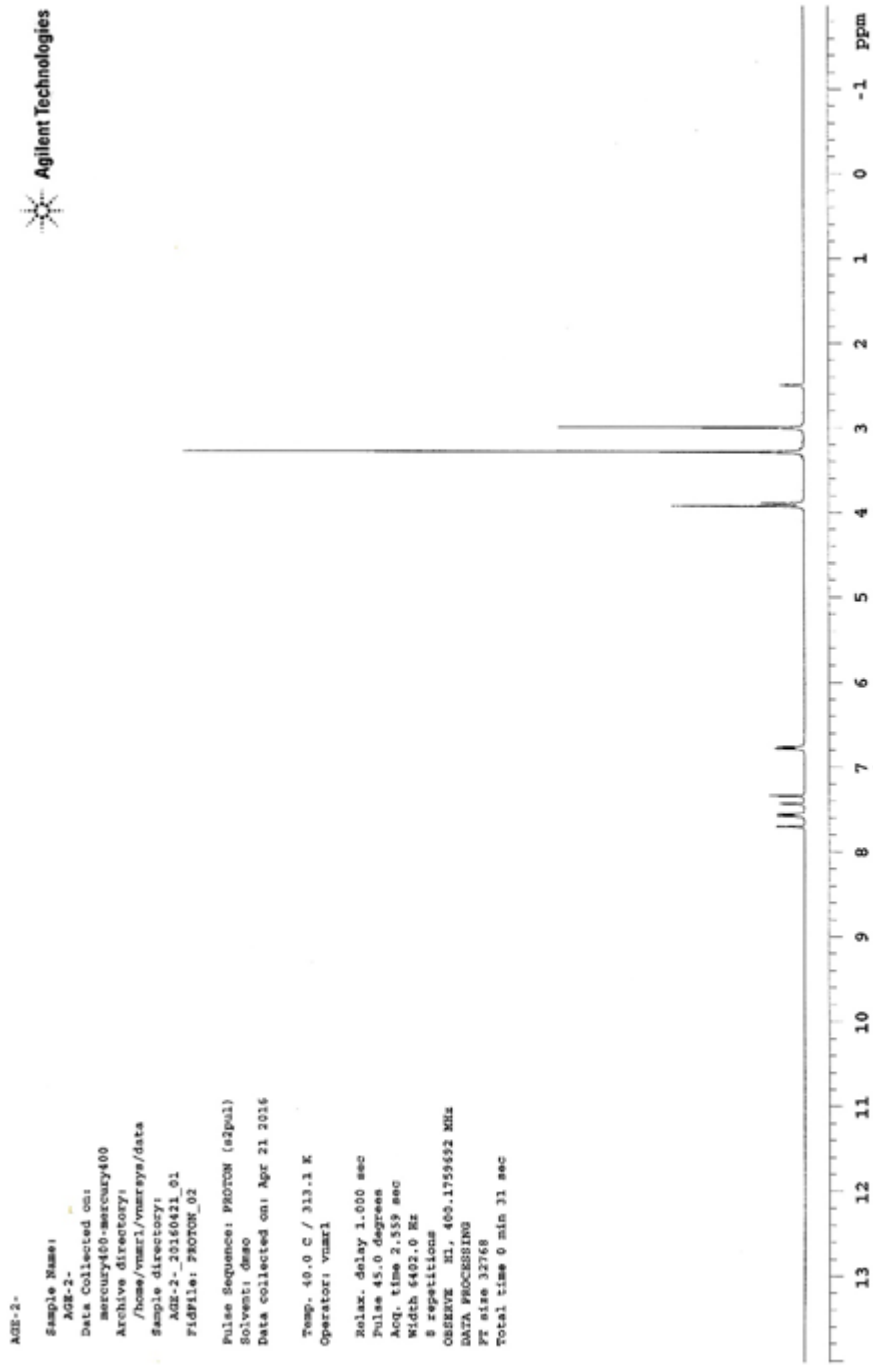
EK 18. Bileşik 4 için IR spektrumu



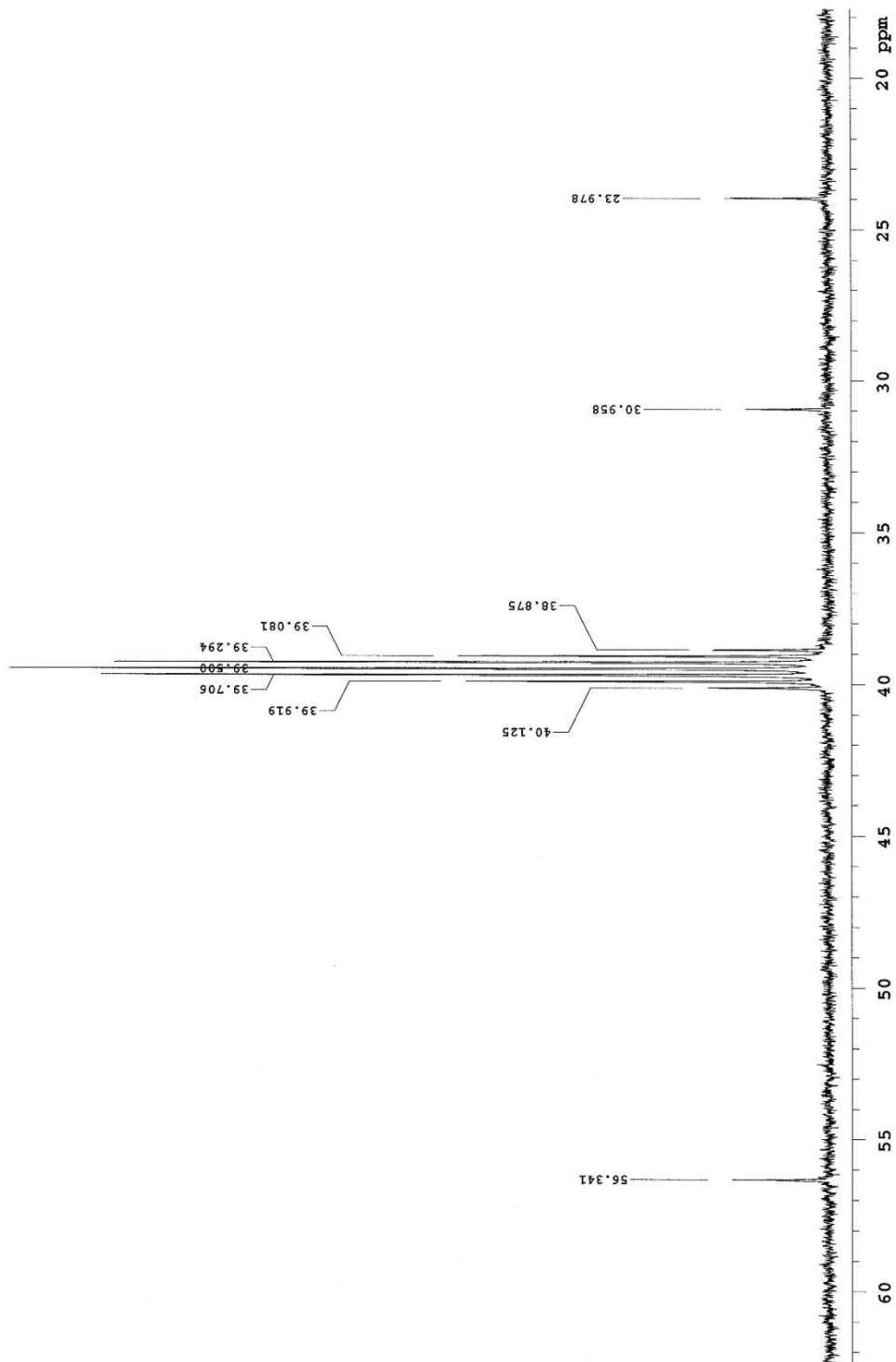
EK 19. Bileşik 4 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (2-10 ppm)



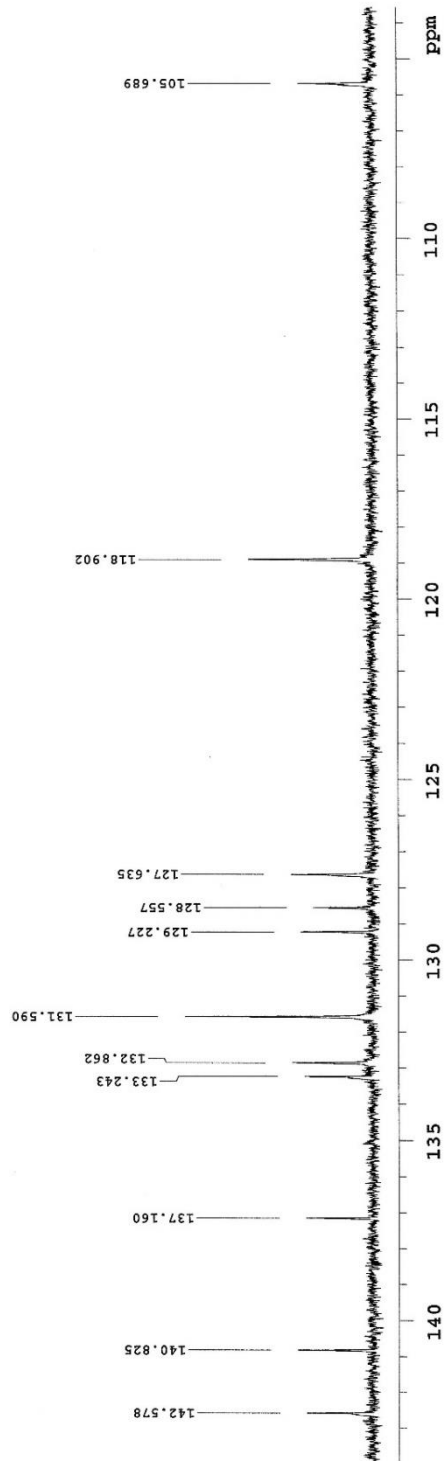
EK 20. Bileşik 4 için ¹H-NMR spektrumu (0-13 ppm)



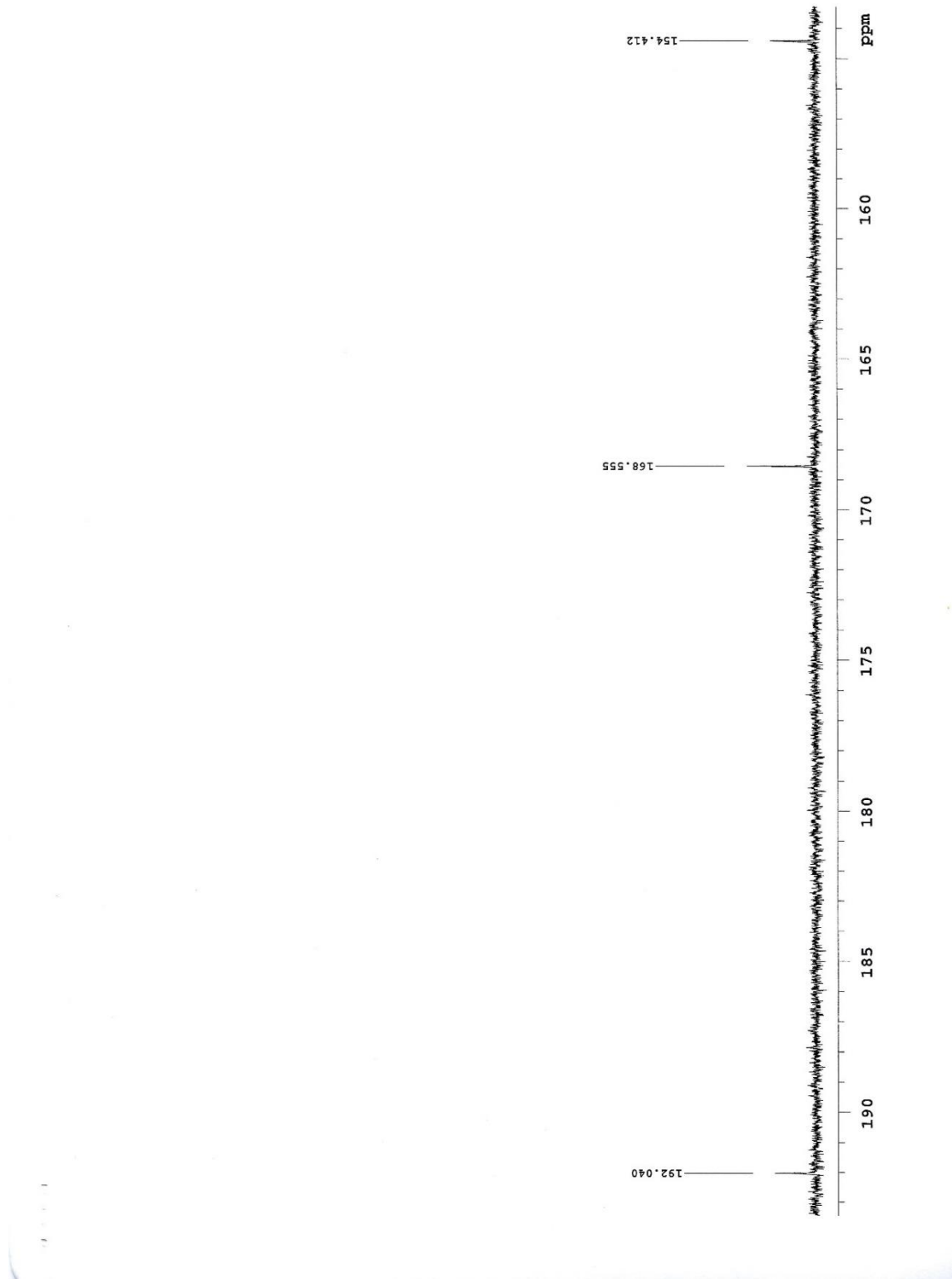
EK 21. Bileşik 4 için ^{13}C -NMR spektrumu (20-60 ppm)



EK 22. Bileşik 4 için ^{13}C -NMR spektrumu (100-150 ppm)



EK 23. Bileşik 4 için ^{13}C -NMR spektrumu (150-200 ppm)



EK 24. Bileşik 4 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE4_4.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE4_4.lcd

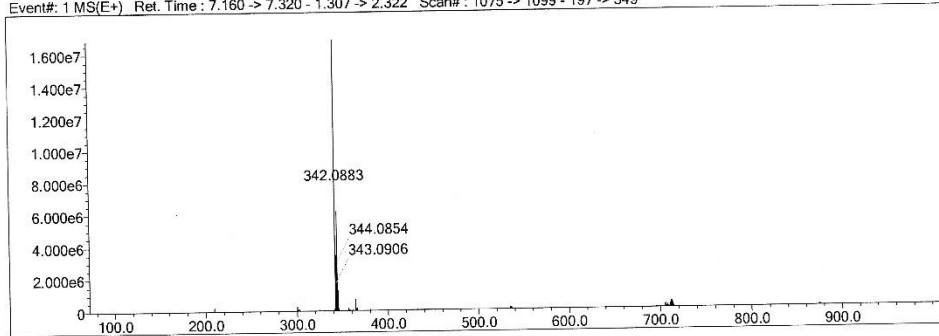
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	21	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

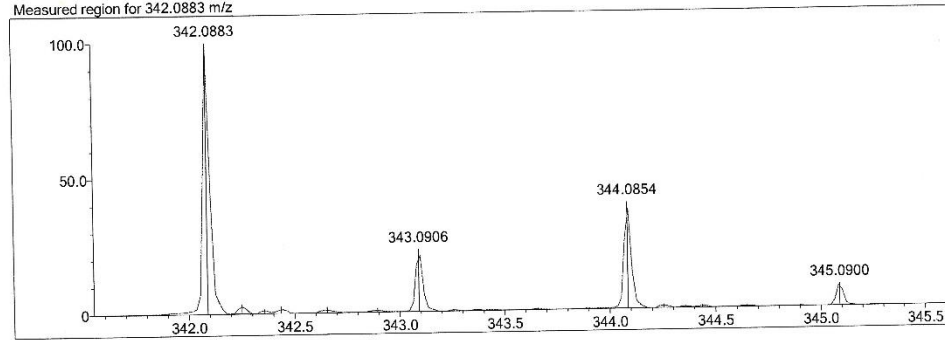
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

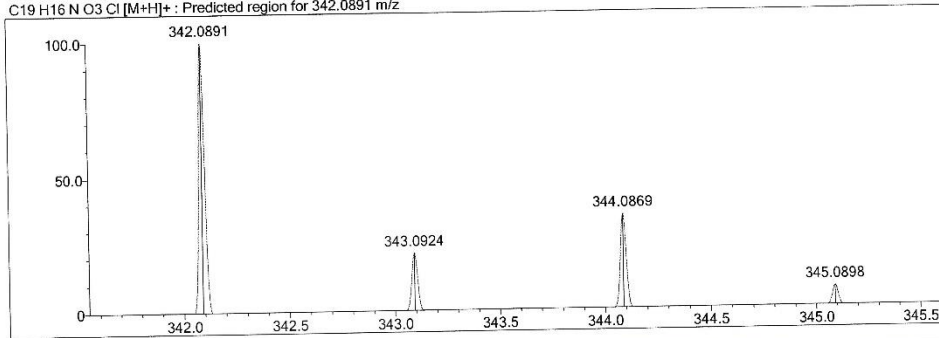
Event#: 1 MS(E+) Ref. Time : 7.160 -> 7.320 - 1.307 -> 2.322 Scan#: 1075 -> 1099 - 197 -> 349



Measured region for 342.0883 m/z

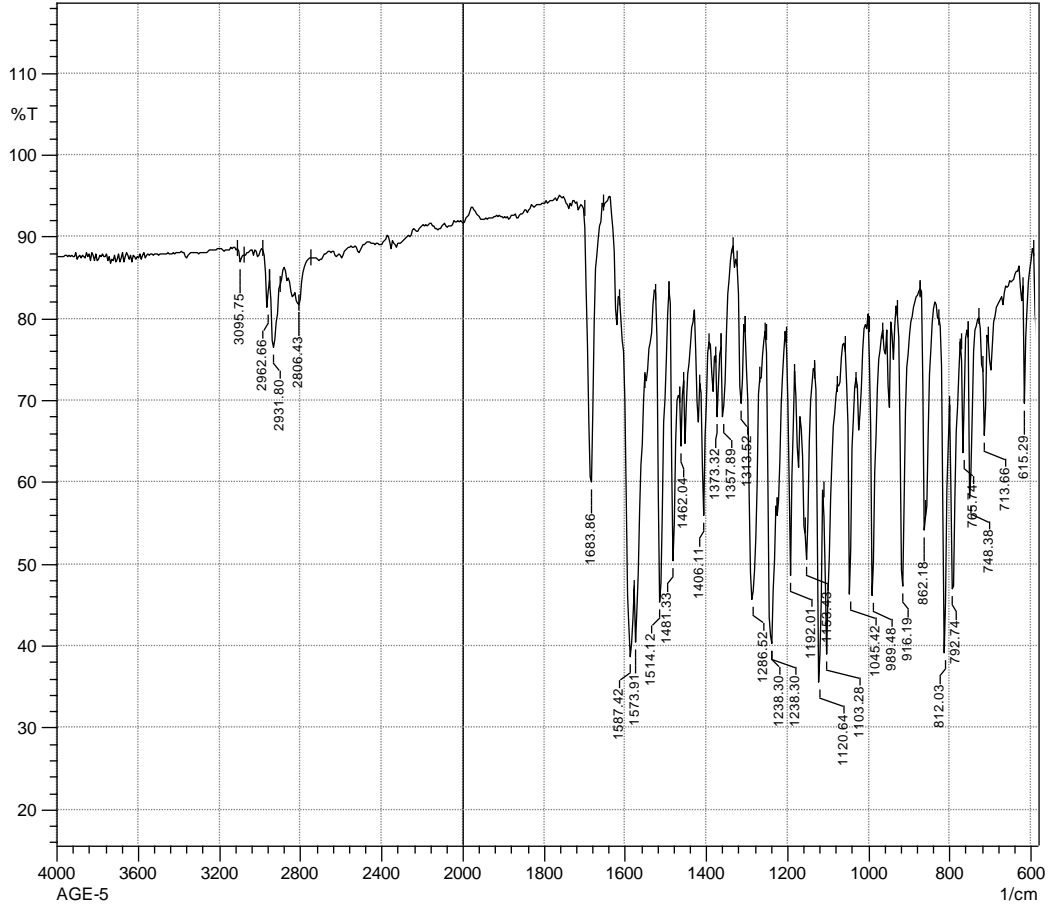


C19 H16 N O3 Cl [M+H]+ : Predicted region for 342.0891 m/z

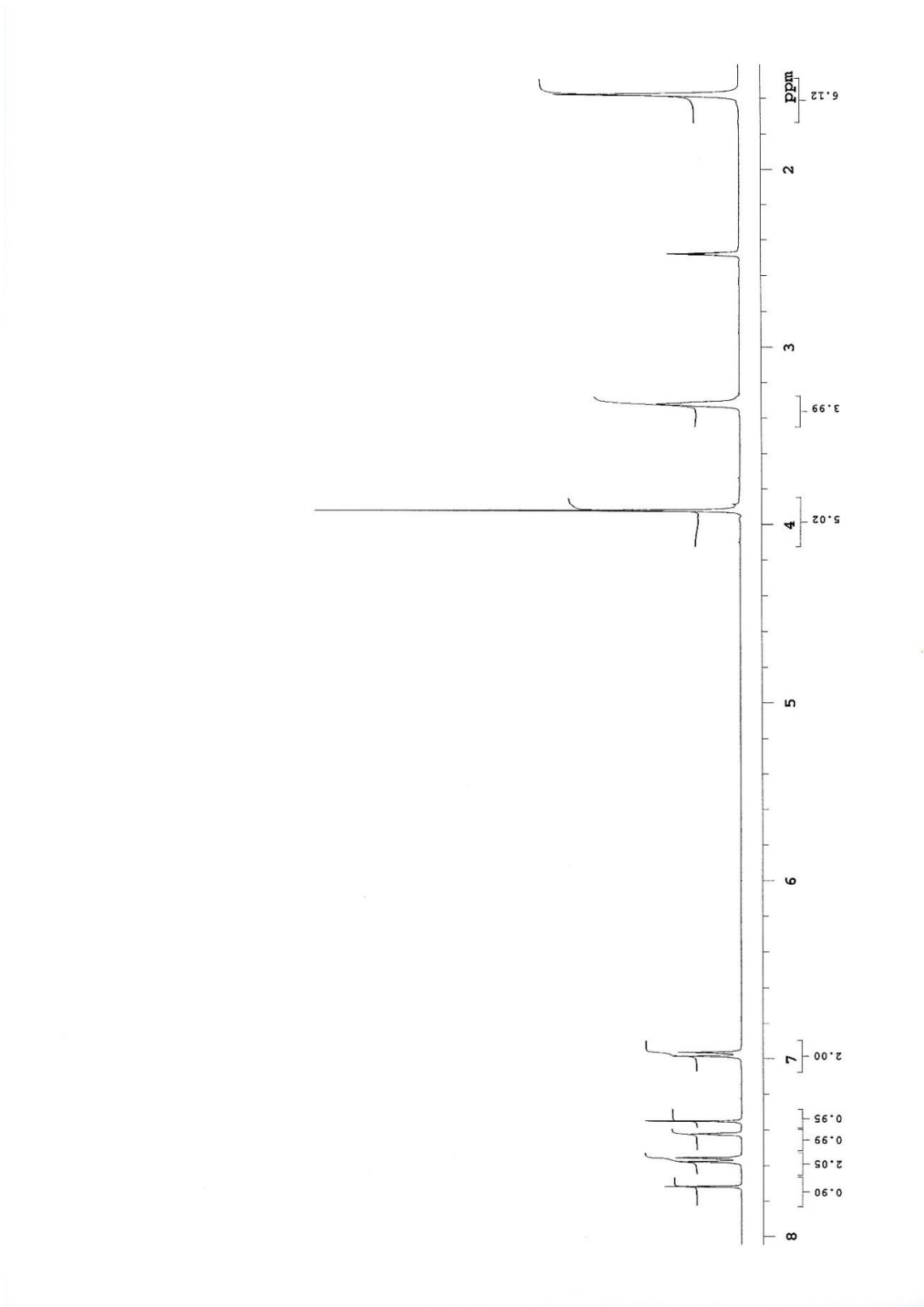


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	96.26	C19 H16 N O3 Cl	[M+H] ⁺	342.0883	342.0891	-0.8	-2.34	99.60	12.0

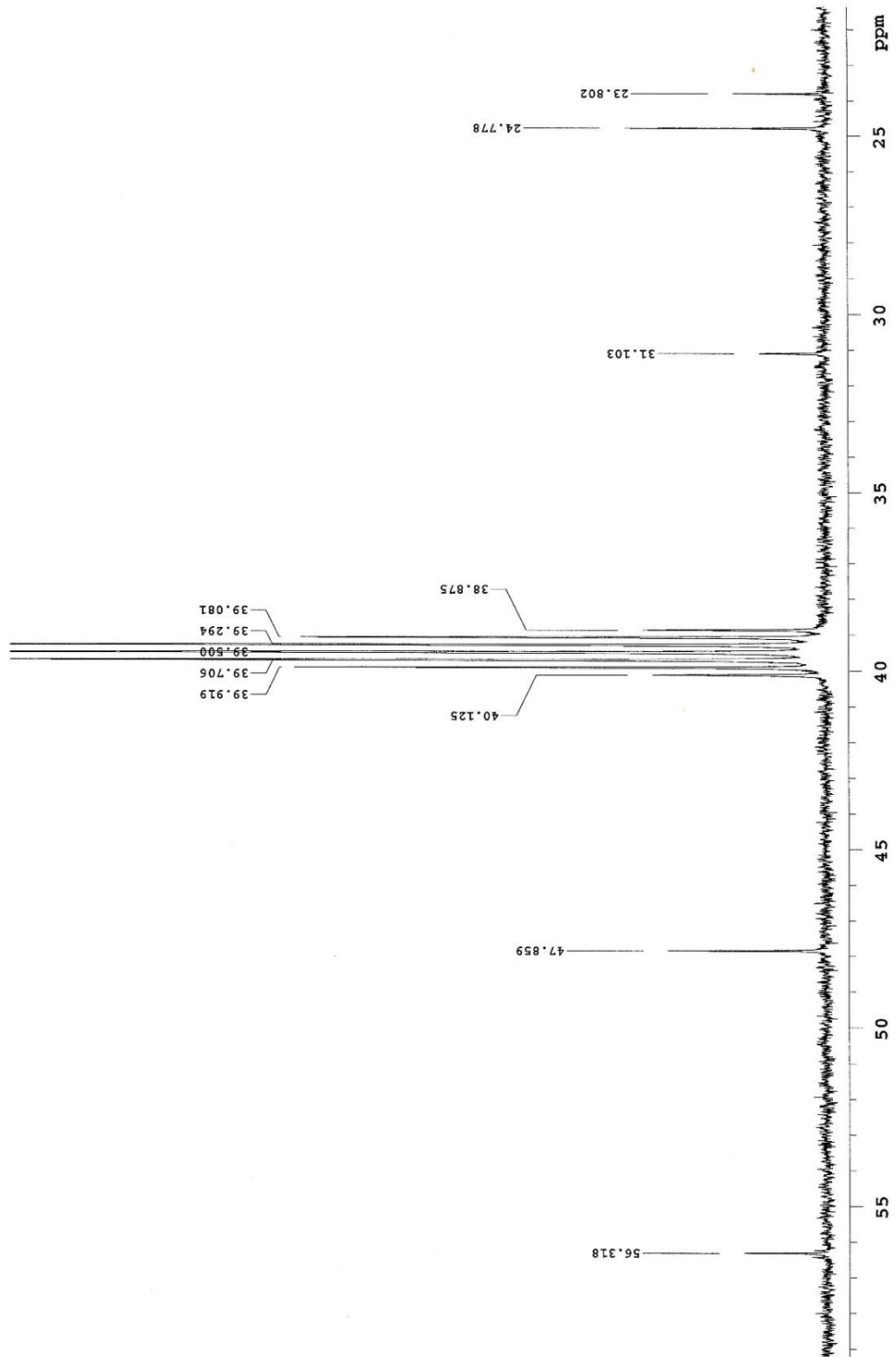
EK 25. Bileşik 5 için IR spektrumu



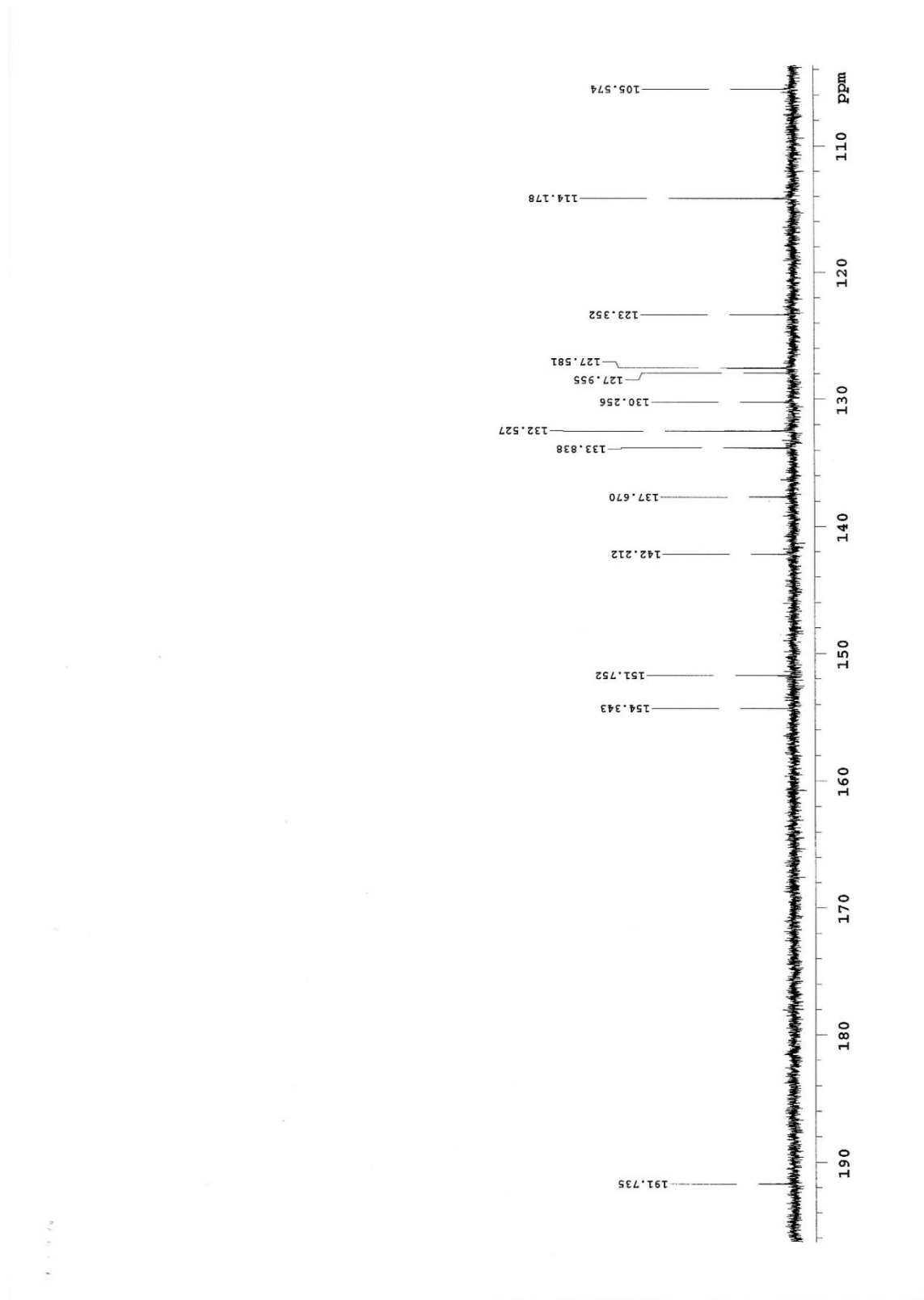
EK 26. Bileşik 5 için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (0-8 ppm)



EK 27. Bileşik 5 için ^{13}C -NMR spektrumu (22-57ppm)



EK 28. Bileşik 5 için ^{13}C -NMR spektrumu (100-200 ppm)



EK 29. Bileşik 5 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE5_5.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE5_5.lcd

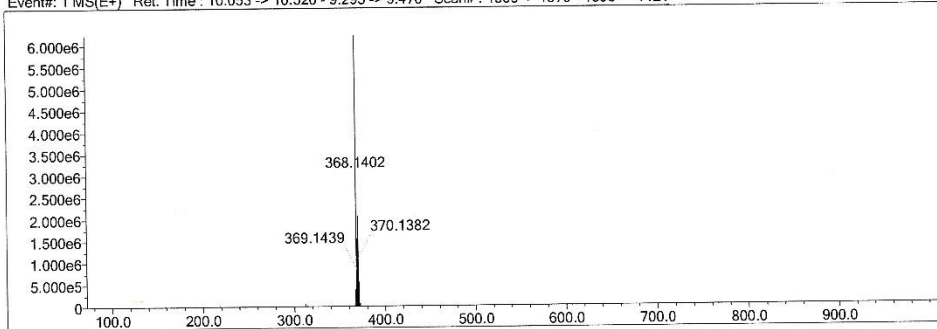
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	22	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

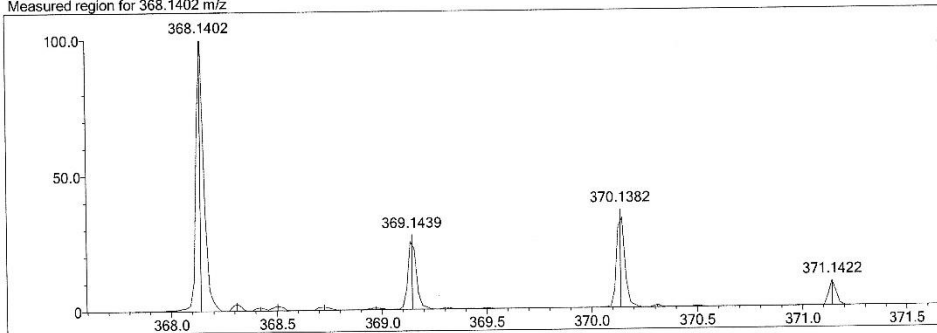
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

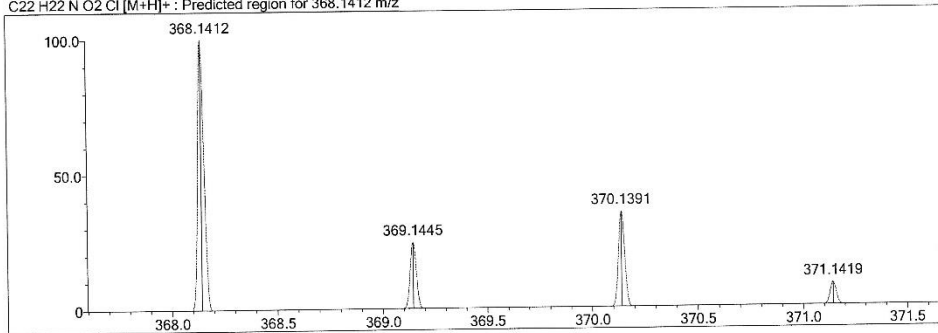
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 10.053 -> 10.520 - 9.293 -> 9.470 Scan#: 1509 -> 1579 - 1395 -> 1421



Measured region for 368.1402 m/z



C22 H22 N O2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 368.1412 m/z



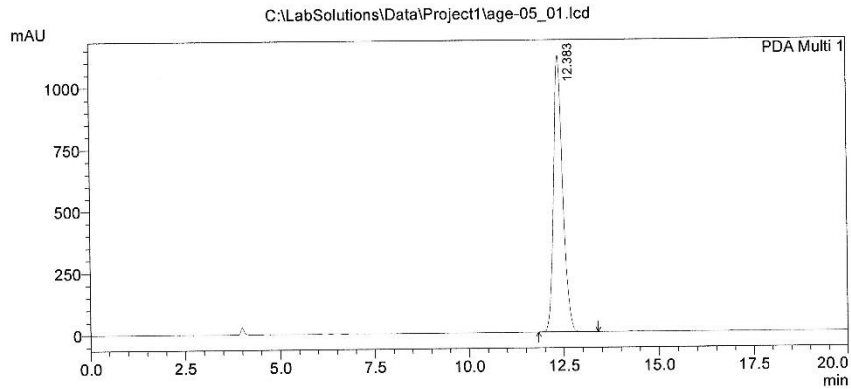
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	84.97	C22 H22 N O2 Cl	[M+H] ⁺	368.1402	368.1412	-1.0	-2.72	88.78	12.0

EK 30. Bileşik 5 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-05_01.lcd
Acquired by : Admin
Sample Name : age-5
Sample ID :
Tray# : 1
Vial # : -1
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : age-05_01.lcd
Method File Name : 85acn15water.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 06.04.2016 14:31:04
Data Processed : 06.04.2016 14:51:07

<Chromatogram>

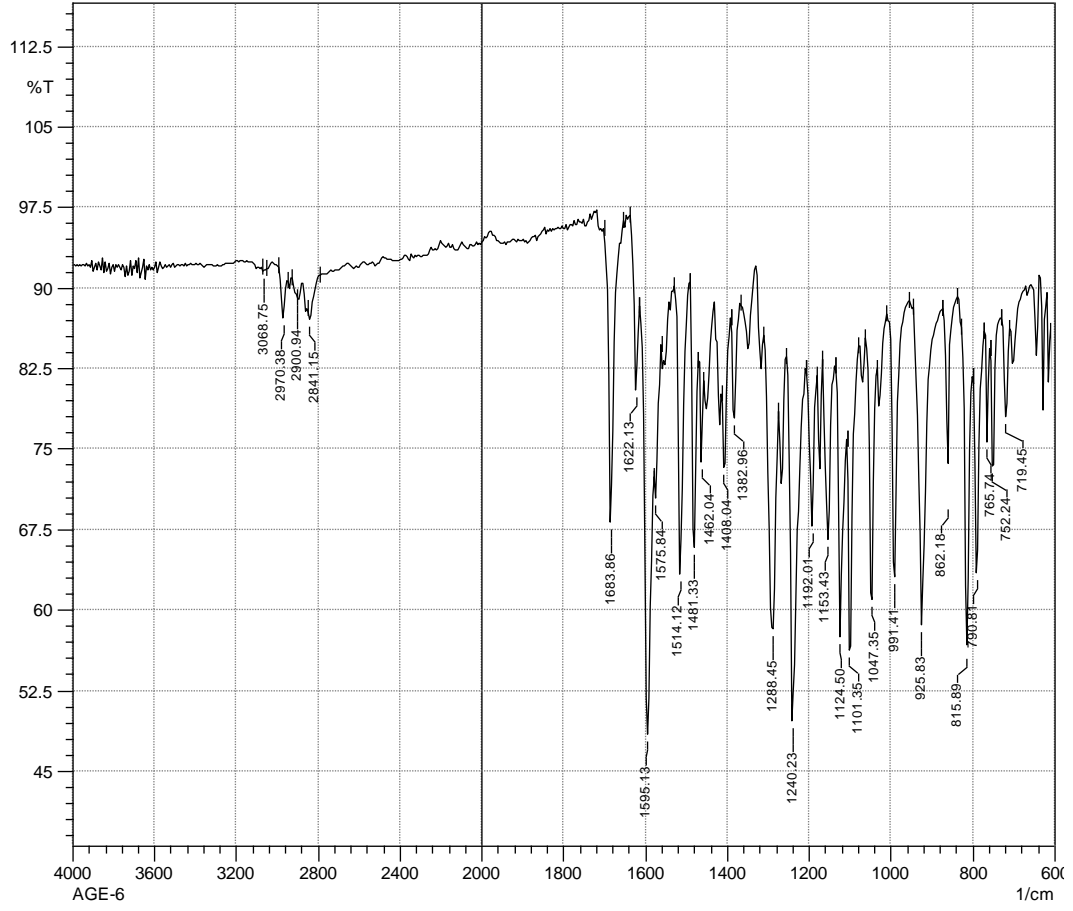


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

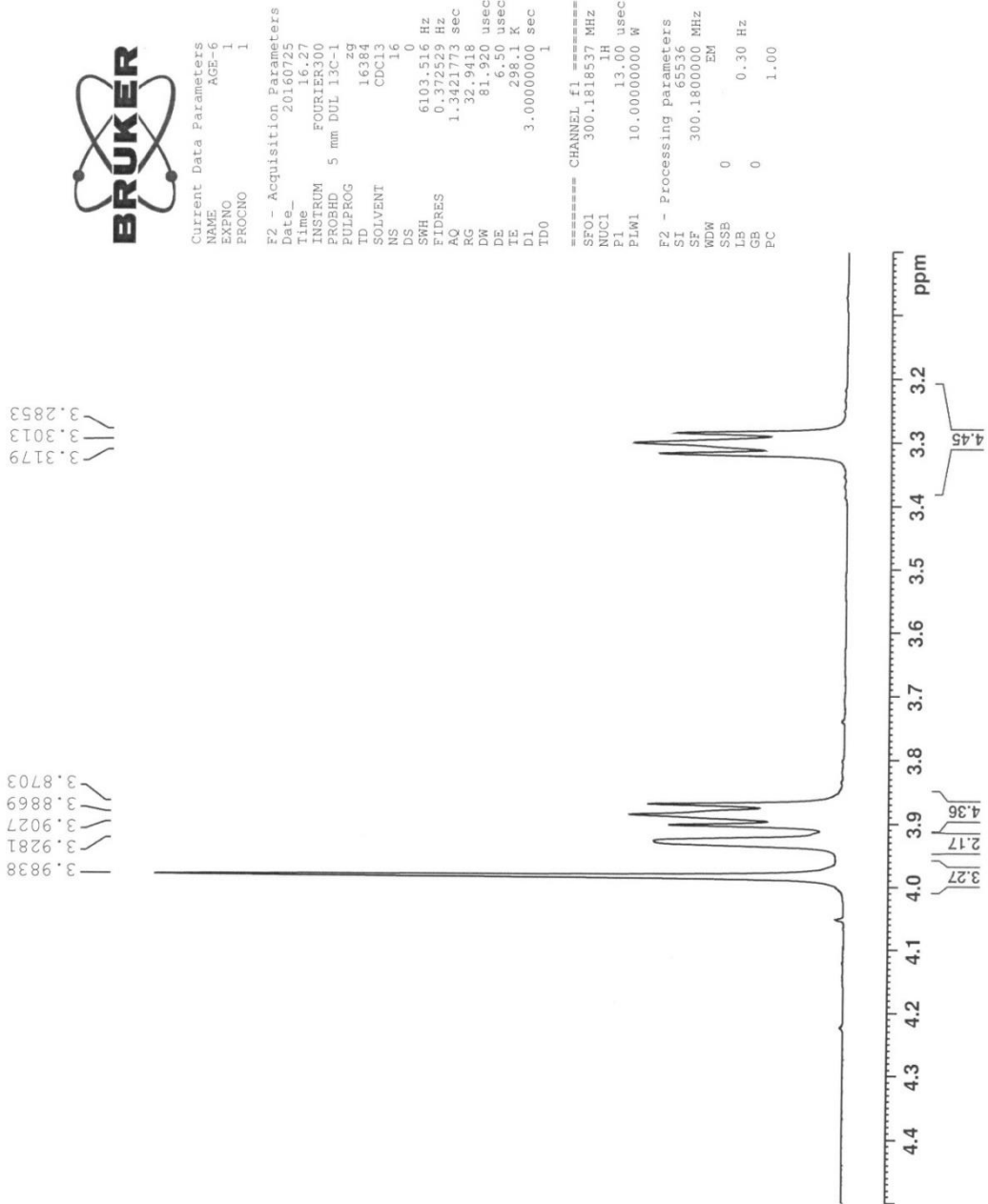
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.383	18680829	1120740	100.000	100.000
Total		18680829	1120740	100.000	100.000

EK 31. Bileşik 6 için IR spektrumu



EK 32. Bileşik 6 için ¹H-NMR spektrumu (3-4 ppm)



EK 33. Bileşik 6 için ¹H-NMR spektrumu (6-8 ppm)



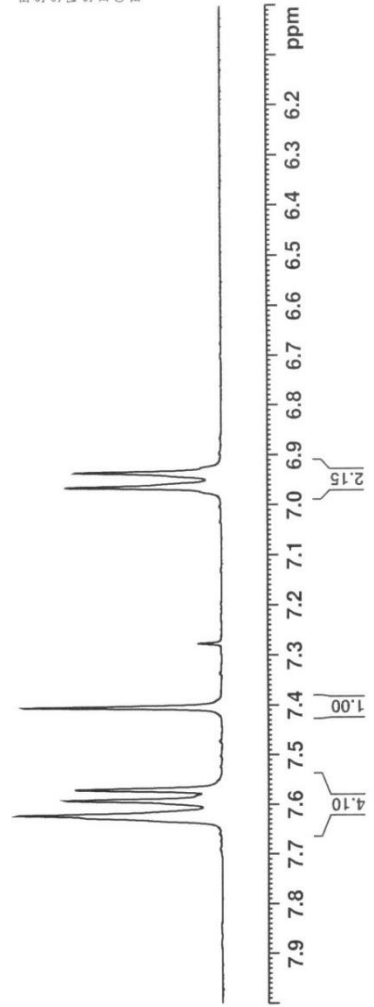
Current Data Parameters
NAME AGE-6
EXENO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20160725
Time 16.27
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT CDC13
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.3421773 sec
RG 32.9418
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 298.1 K
D1 3.00000000 sec
TD0 1

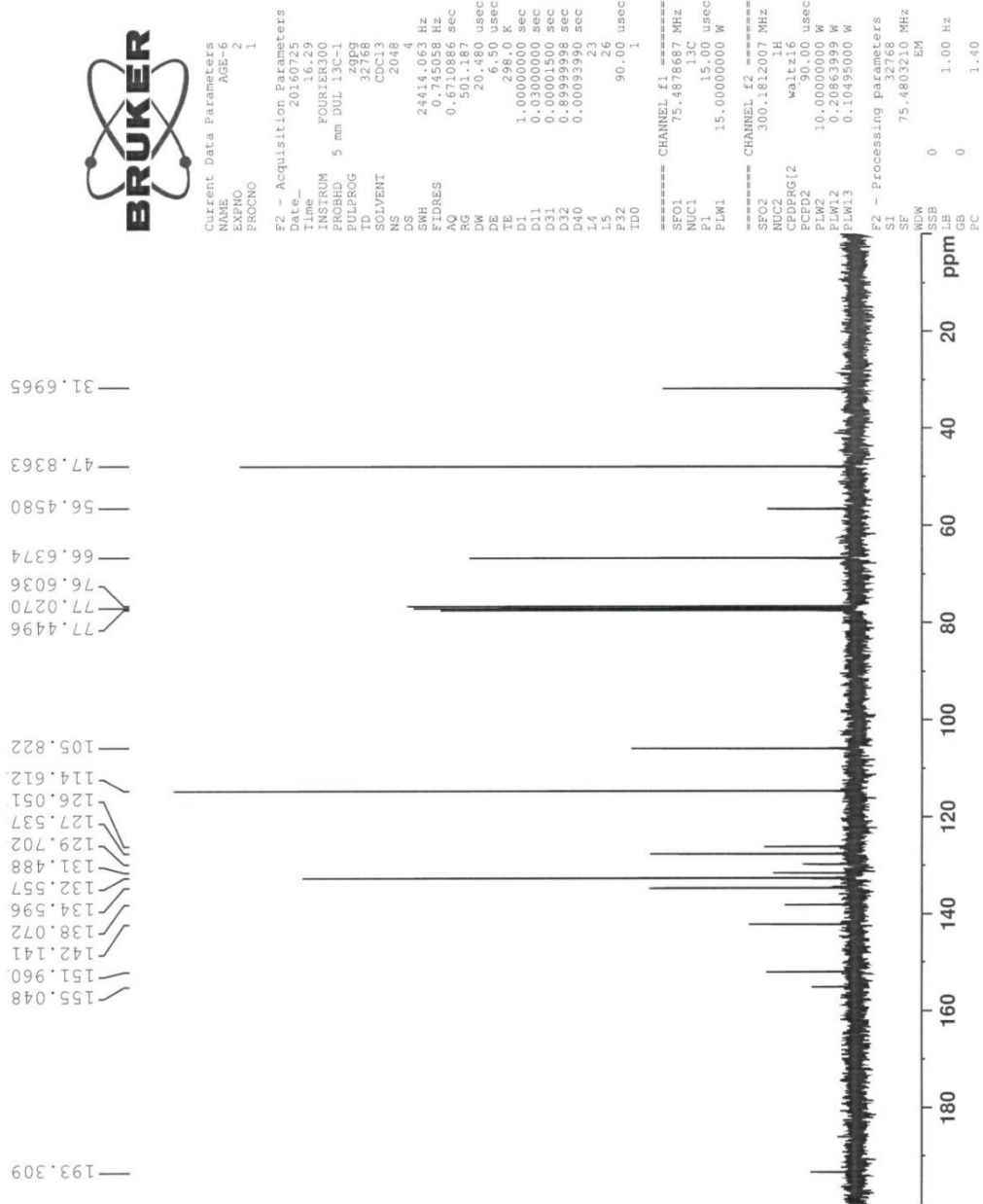
==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 1H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing Parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

7.6208
7.5911
7.5695
7.4042
6.9642
6.9347



EK 34. Bileşik 6 için ¹³C-NMR spektrumu (0-200 ppm)



EK 35. Bileşik 6 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE6_6.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE6_6.lcd

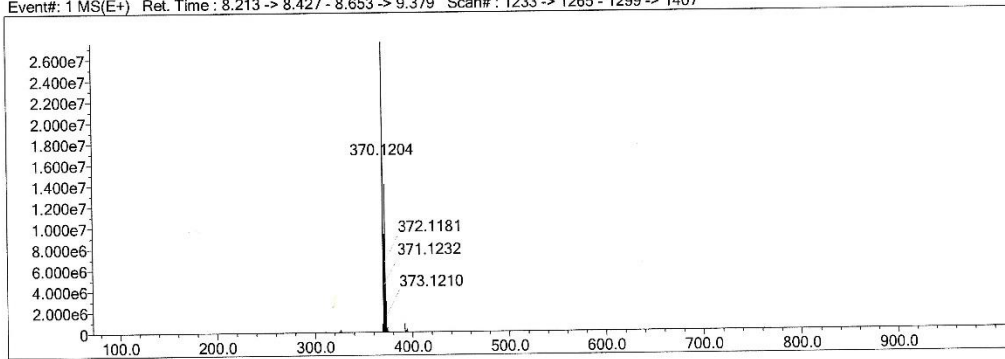
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	22	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	1	S	2	0	0					

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

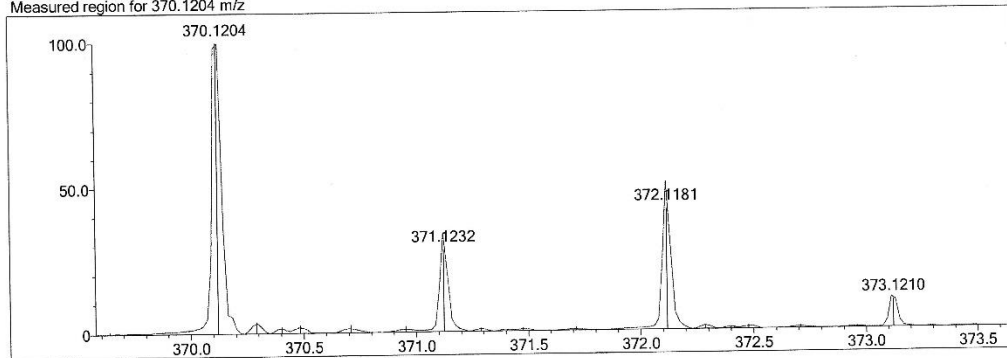
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

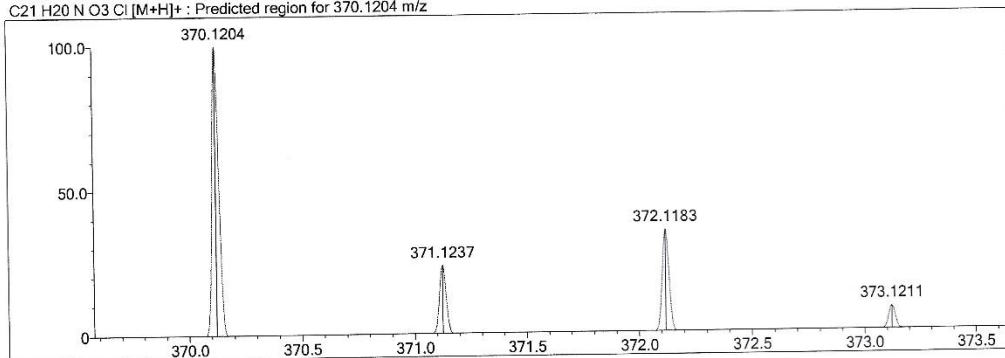
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.213 -> 8.427 - 8.653 -> 9.379 Scan#: 1233 -> 1265 - 1299 -> 1407



Measured region for 370.1204 m/z



C21 H20 N O3 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 370.1204 m/z



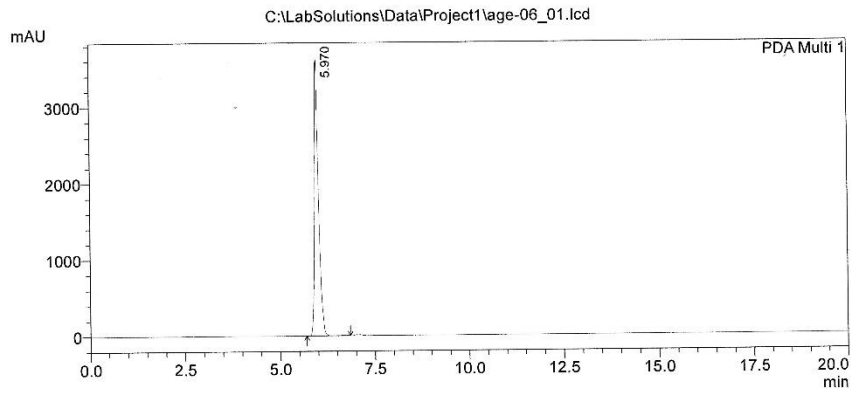
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	70.29	C ₂₁ H ₂₀ N O ₃ Cl	[M+H] ⁺	370.1204	370.1204	-0.0	0.00	70.29	12.0

EK 36. Bileşik 6 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-06_01.lcd
Acquired by : Admin
Sample Name : age-6
Sample ID :
Tray# : 1
Vial # : -1
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : age-06_01.lcd
Method File Name : pro.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 06.04.2016 15:02:52
Data Processed : 08.04.2016 13:30:02

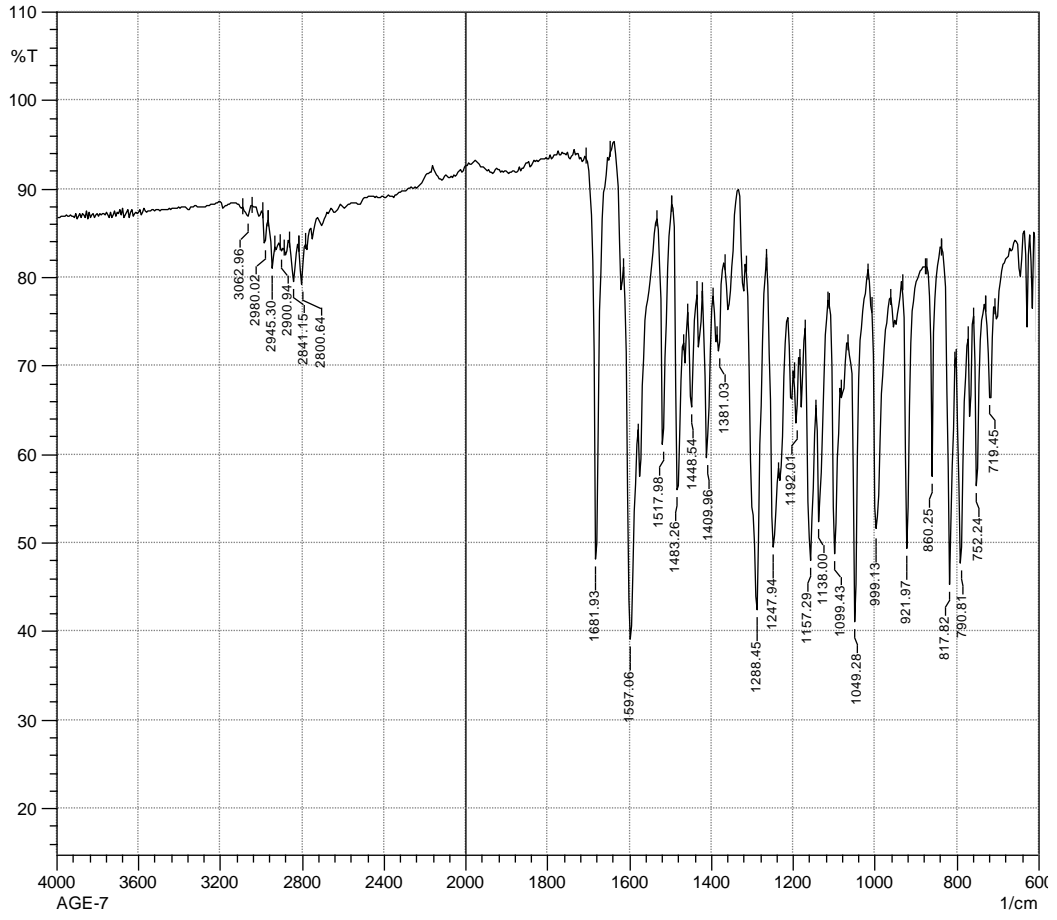
<Chromatogram>



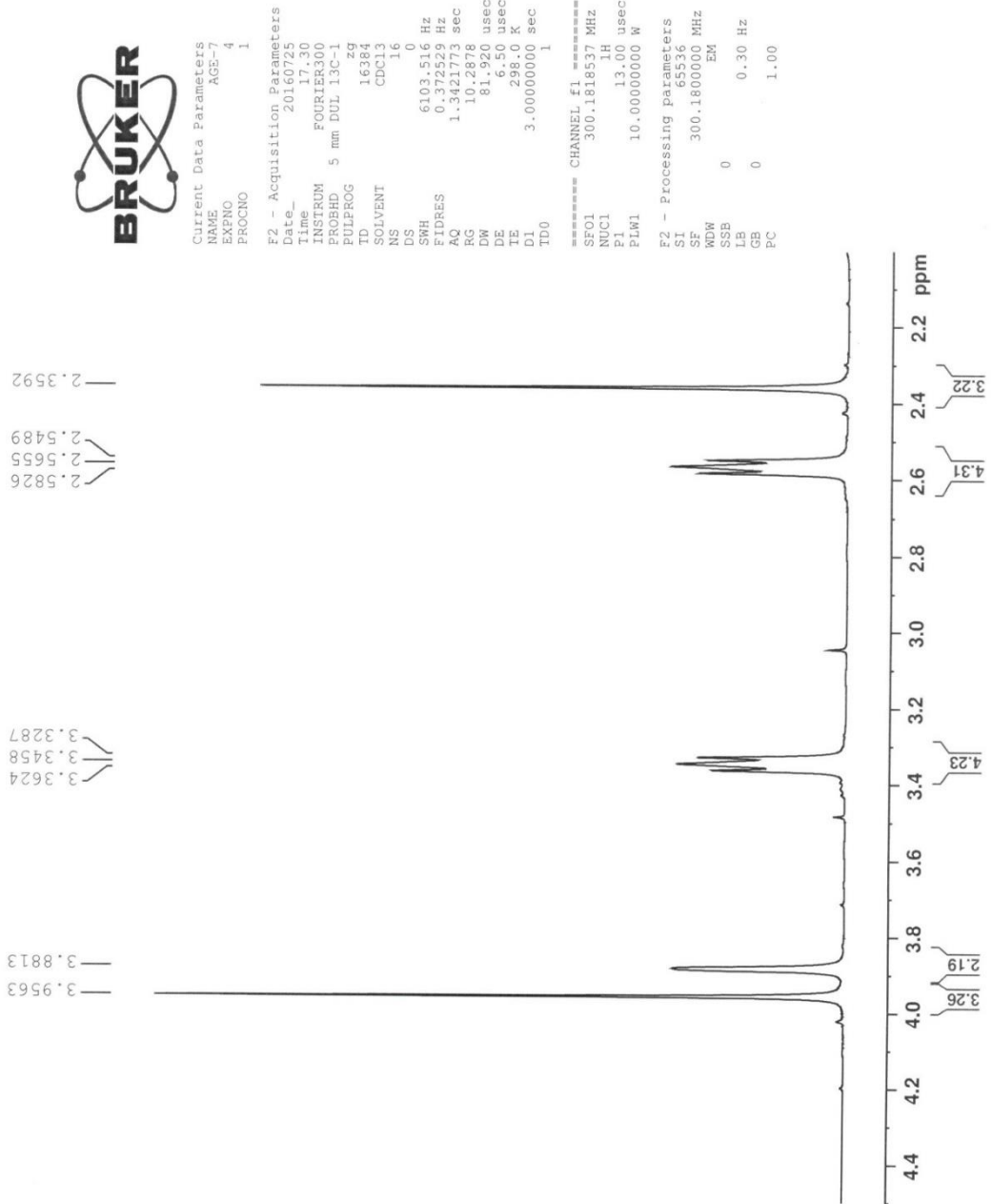
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	5.970	27095766	3632238	100.000	100.000
Total		27095766	3632238	100.000	100.000

EK 37. Bileşik 7 için IR spektrumu



EK 38. Bileşik 7 için ¹H-NMR spektrumu (0-4 ppm)



EK 39. Bileşik 7 için ¹H-NMR spektrumu (6-8 ppm)



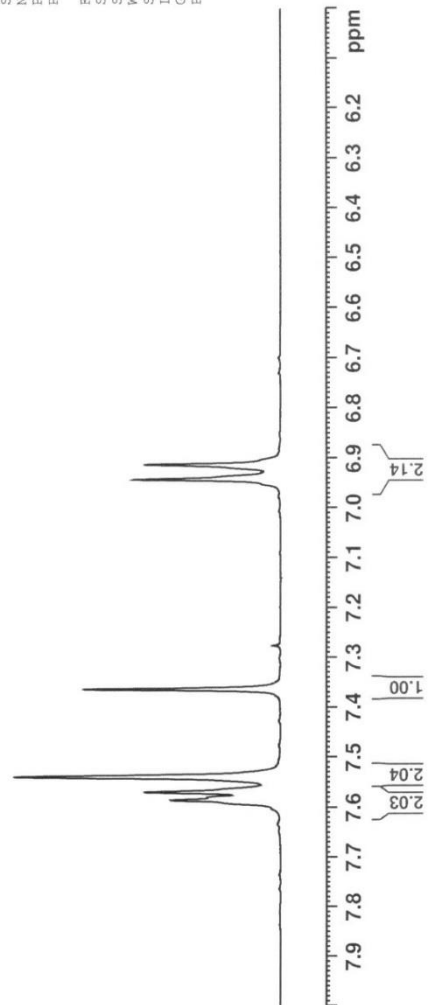
Current Data Parameters
 NAME AGE-7
 EXFNO 4
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20160725
 Time 17.30
 INSTRUM FOURIER300
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg
 ID 16384
 SOLVENT CDCl3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 10.2878
 DW 81.920 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.0 K
 D1 3.00000000 sec
 TD0 1

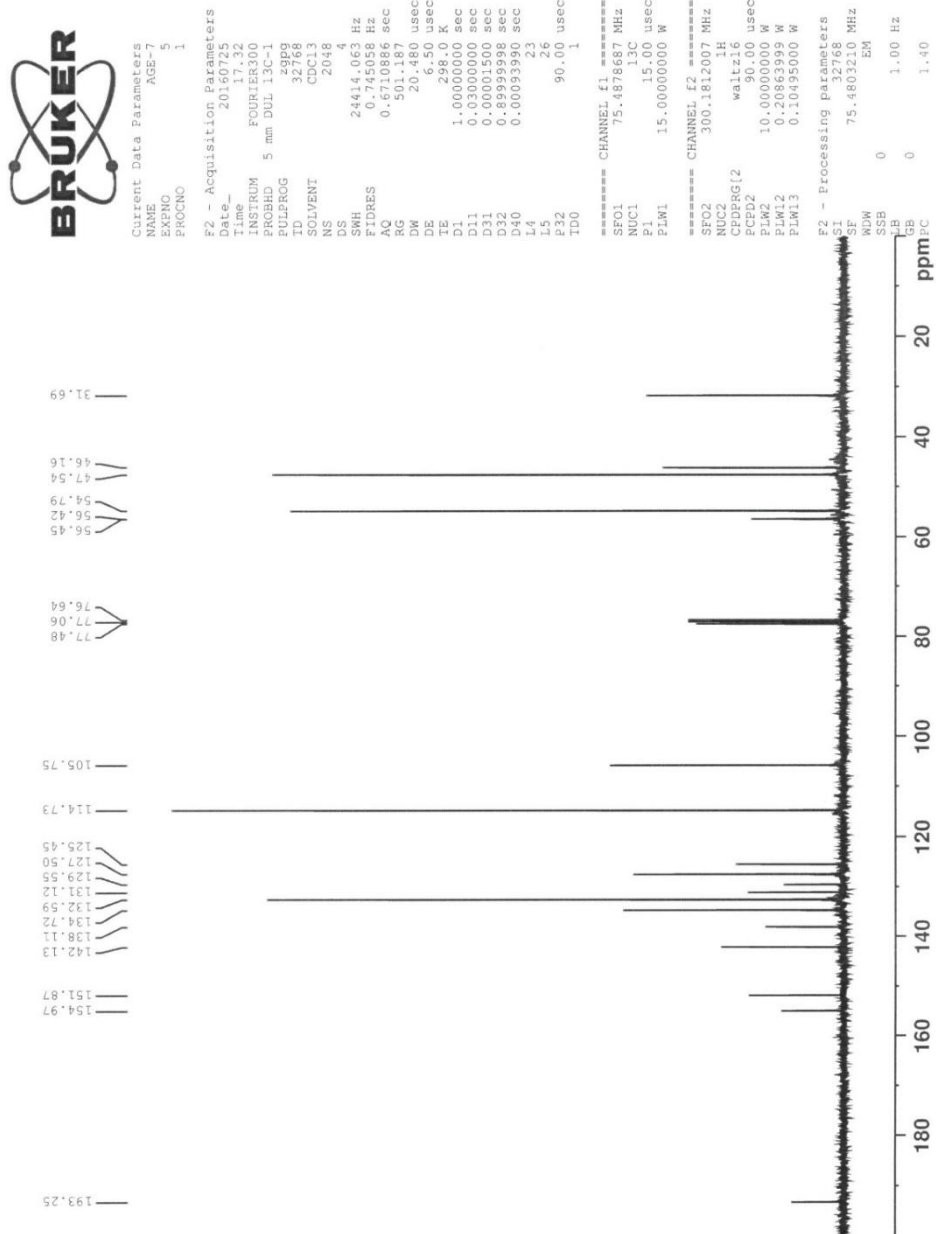
===== CHANNEL f1 =====
 SF01 300.1818537 MHz
 NUC1 1H
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing Parameters
 SI 65536
 SF 300.18000000 MHz
 EQ
 WDW 0
 SSB 0 0.30 Hz
 LB 0
 GB 0
 PC 1.00

7.5854
 7.5800
 7.5695
 7.5386
 7.3638
 6.9425
 6.9129



EK 40. Bileşik 7 için ¹³C-NMR spektrumu (0-190 ppm)



EK 41. Bileşik 7 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE7_7.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE7_7.lcd

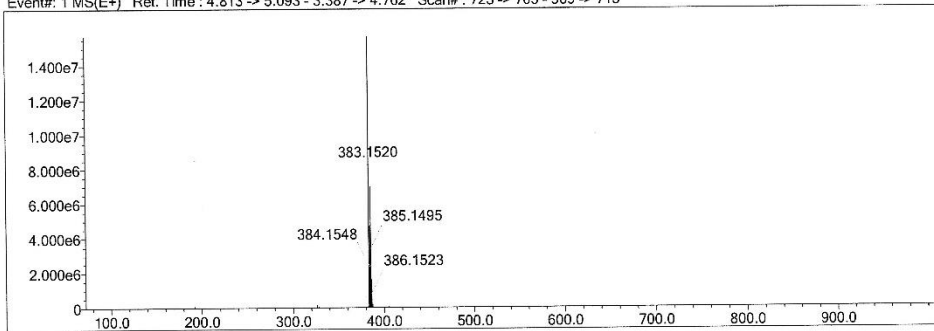
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	22	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	2	S	2	0	0					

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

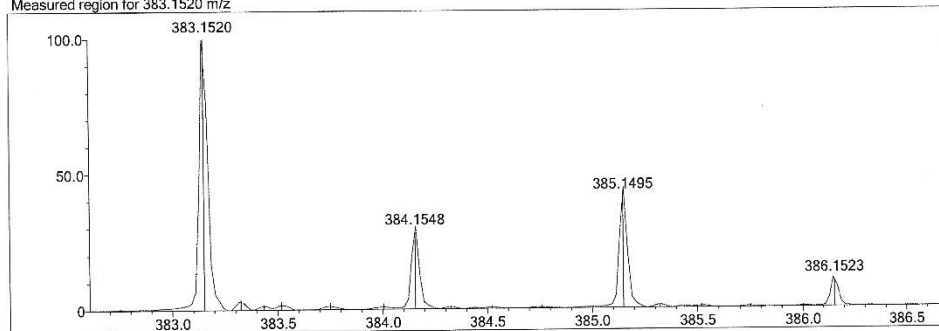
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

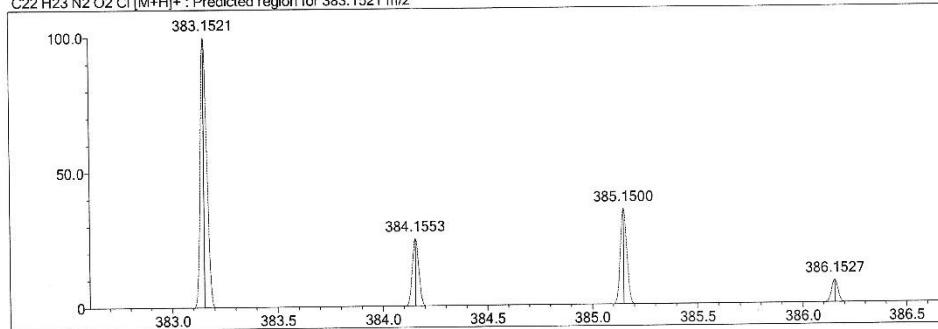
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 4.813 -> 5.093 - 3.387 -> 4.762 Scan#: 723 -> 765 - 509 -> 715



Measured region for 383.1520 m/z



C22 H23 N2 O2 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 383.1521 m/z



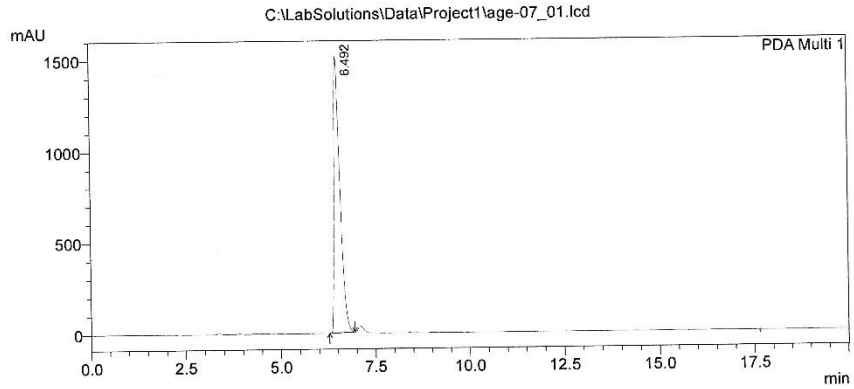
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Isc	DBE
1	78.88	C22 H23 N2 O2 Cl	[M+H] ⁺	383.1520	383.1521	-0.1	-0.26	78.88	12.0

EK 42. Bileşik 7 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-07_01.lcd
Acquired by : Admin
Sample Name : age-7
Sample ID :
Tray# : 1
Vial # : -1
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : age-07_01.lcd
Method File Name : 85acn15water.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 07.04.2016 09:48:01
Data Processed : 07.04.2016 10:08:03

<Chromatogram>

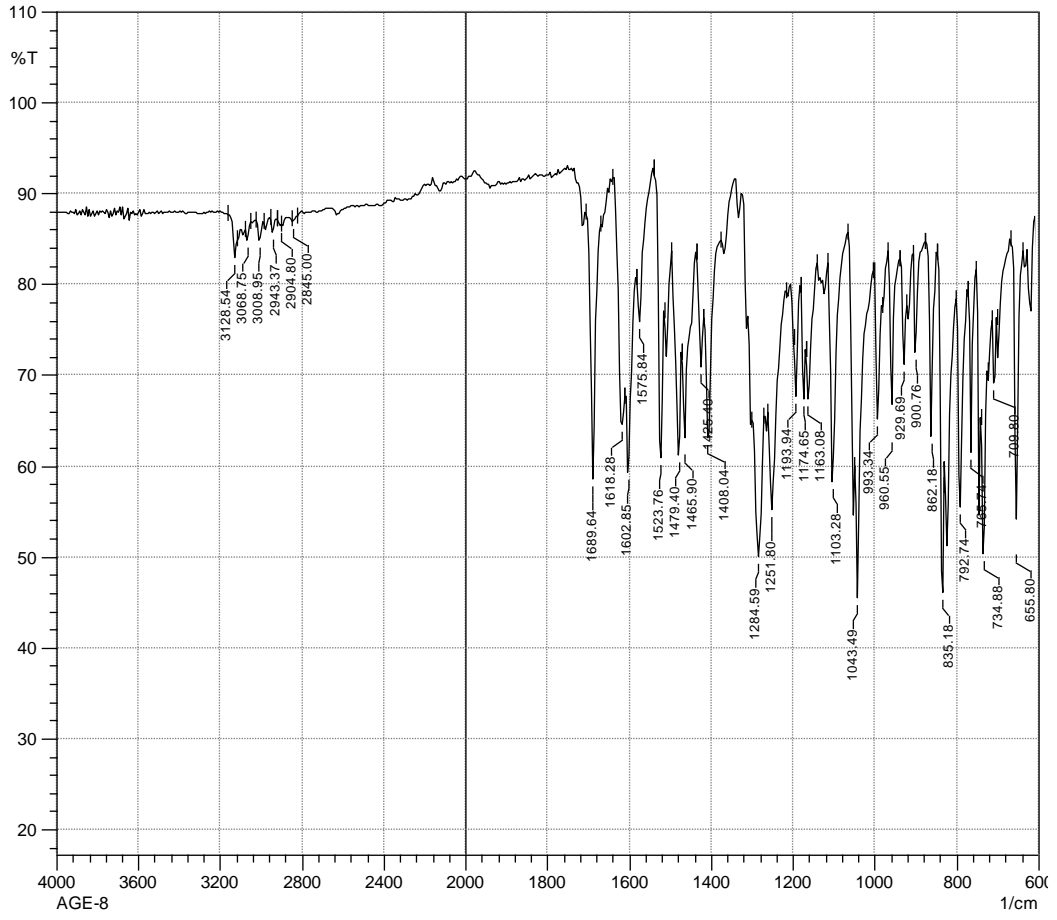


1 PDA Multi 1/254nm 4nm

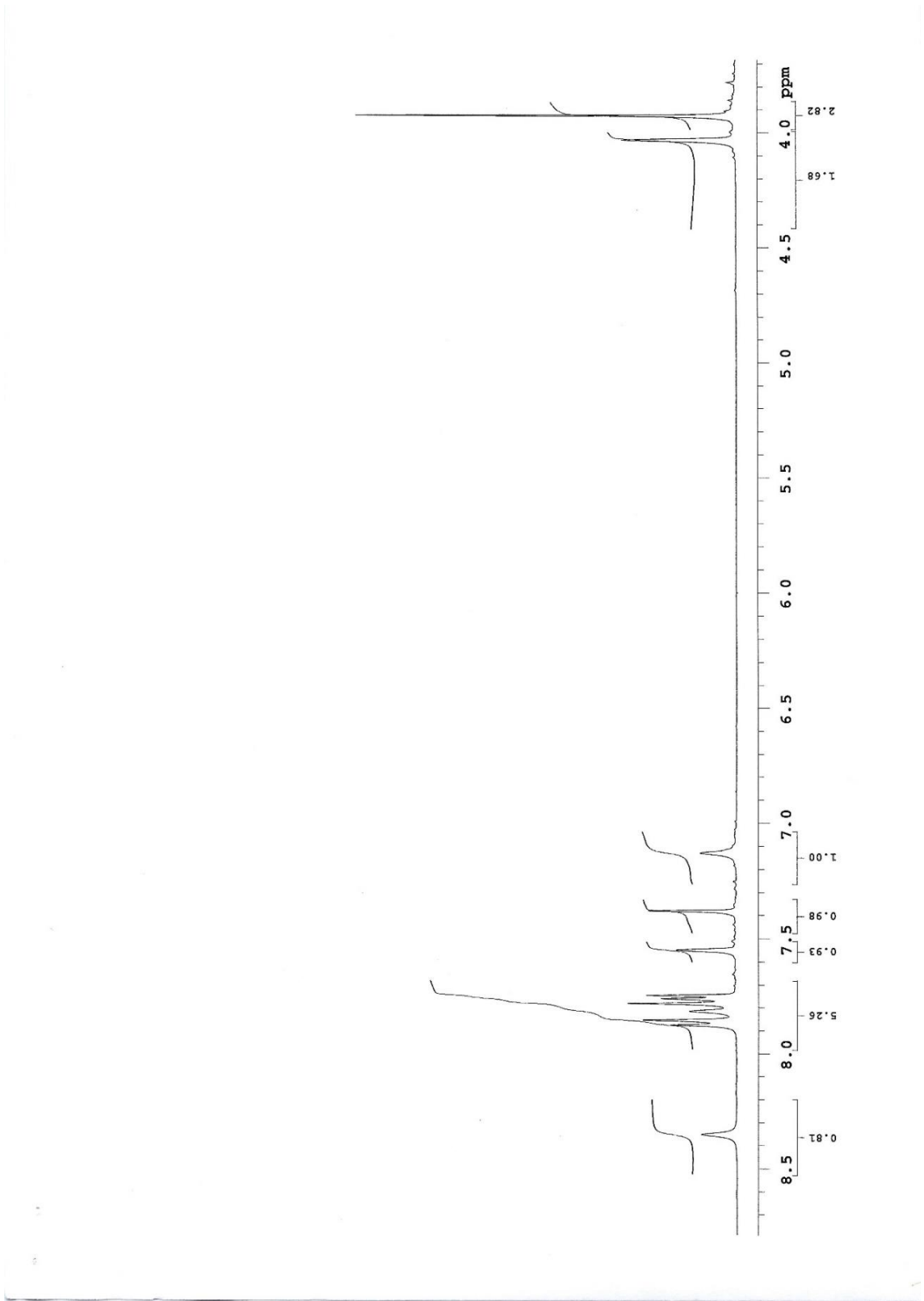
PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	6.492	16801081	1516589	100.000	100.000
Total		16801081	1516589	100.000	100.000

EK 43. Bileşik 8 için IR spektrumu



EK 44. Bileşik **8** için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (3-9 ppm)



EK 45. Bileşik 8 için ¹H-NMR spektrumu (0-4 ppm)

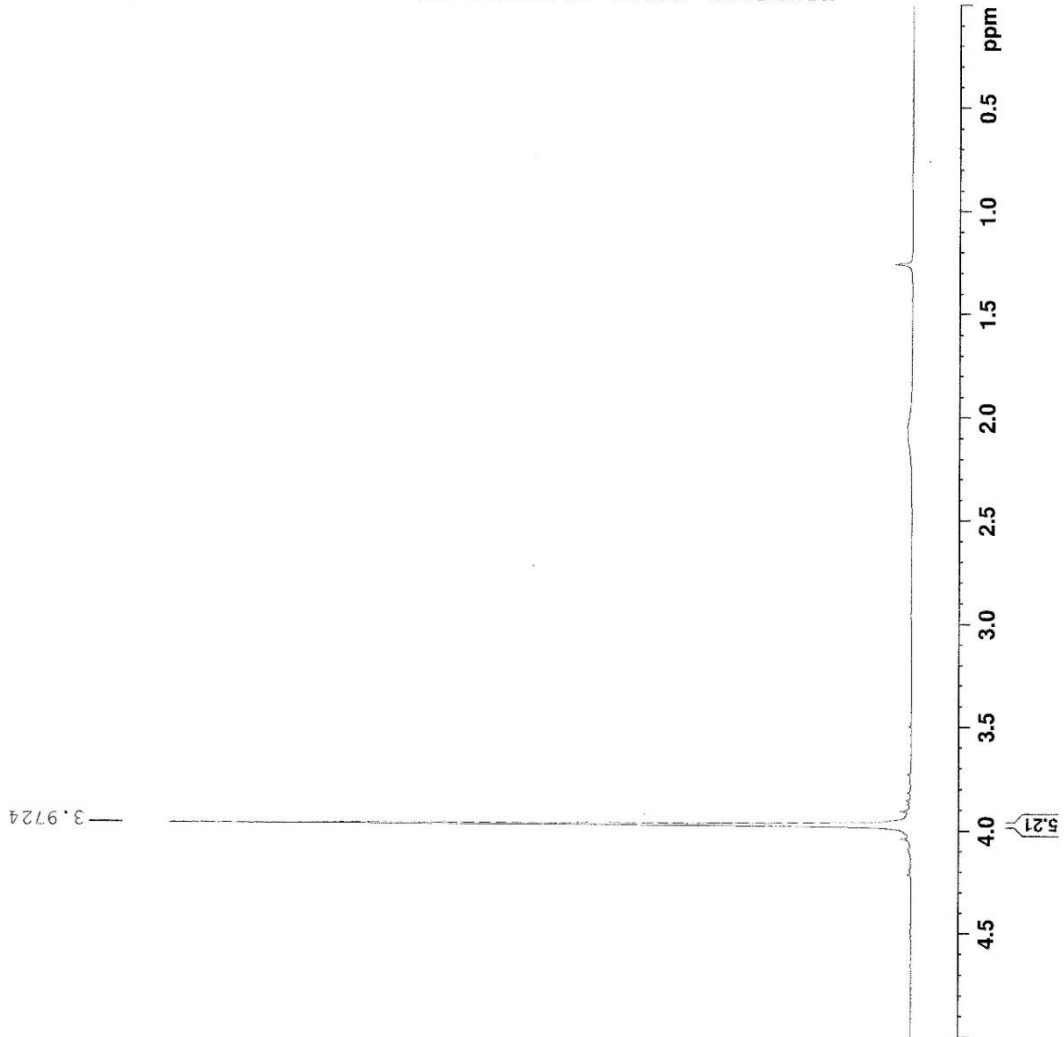


Current Data Parameters
NAME_
AGE-8
EXPNO 1
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20160728
Time 14.22
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zg
TD 16384
SOLVENT CDCl3
NS 16
DS 0
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 0.372529 Hz
AQ 1.346173 sec
RG 19.2517
DW 81.920 usec
DE 6.50 usec
TE 298.0 K
D1 3.0000000 sec
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====
SFO1 300.1818537 MHz
NUC1 -H
P1 13.00 usec
PLW1 10.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI 65536
SF 300.1800000 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00



EK 46. Bileşik 8 için ¹H-NMR spektrumu (7-8 ppm)



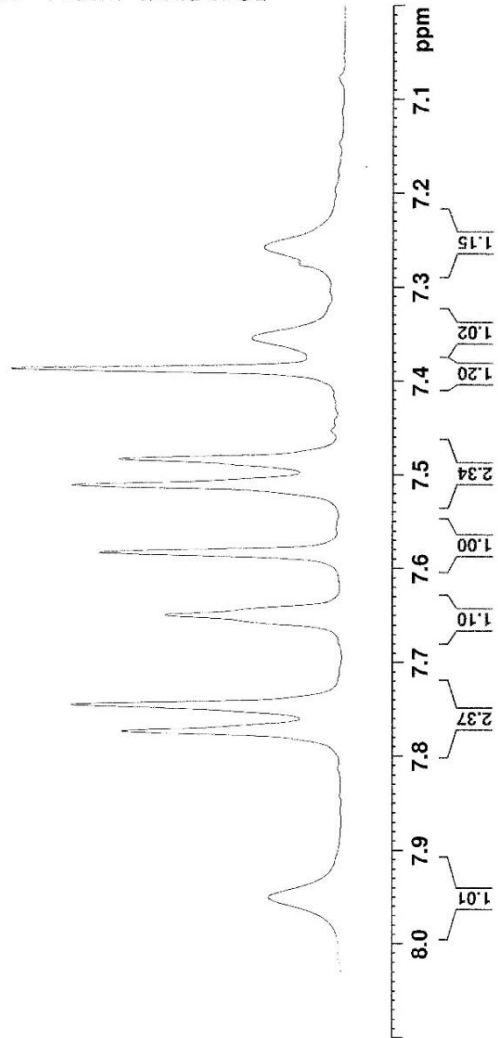
Current Data Parameters
 NAME ASE-8
 EXNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20160728
 Time 14.22
 INSTRUM FOURIER300
 PROBEHD 5 mm DUL 13C-1
 PULPROG zg30
 ID 16384
 SOLVENT CDCl3
 NS 16
 DS 0
 SWH 6103.516 Hz
 FIDRES 0.372529 Hz
 AQ 1.3421773 sec
 RG 19.2517
 DW 61.920 usec
 DE 5.50 usec
 TE 298.0 K
 D1 3.0000000 sec
 TD0 1

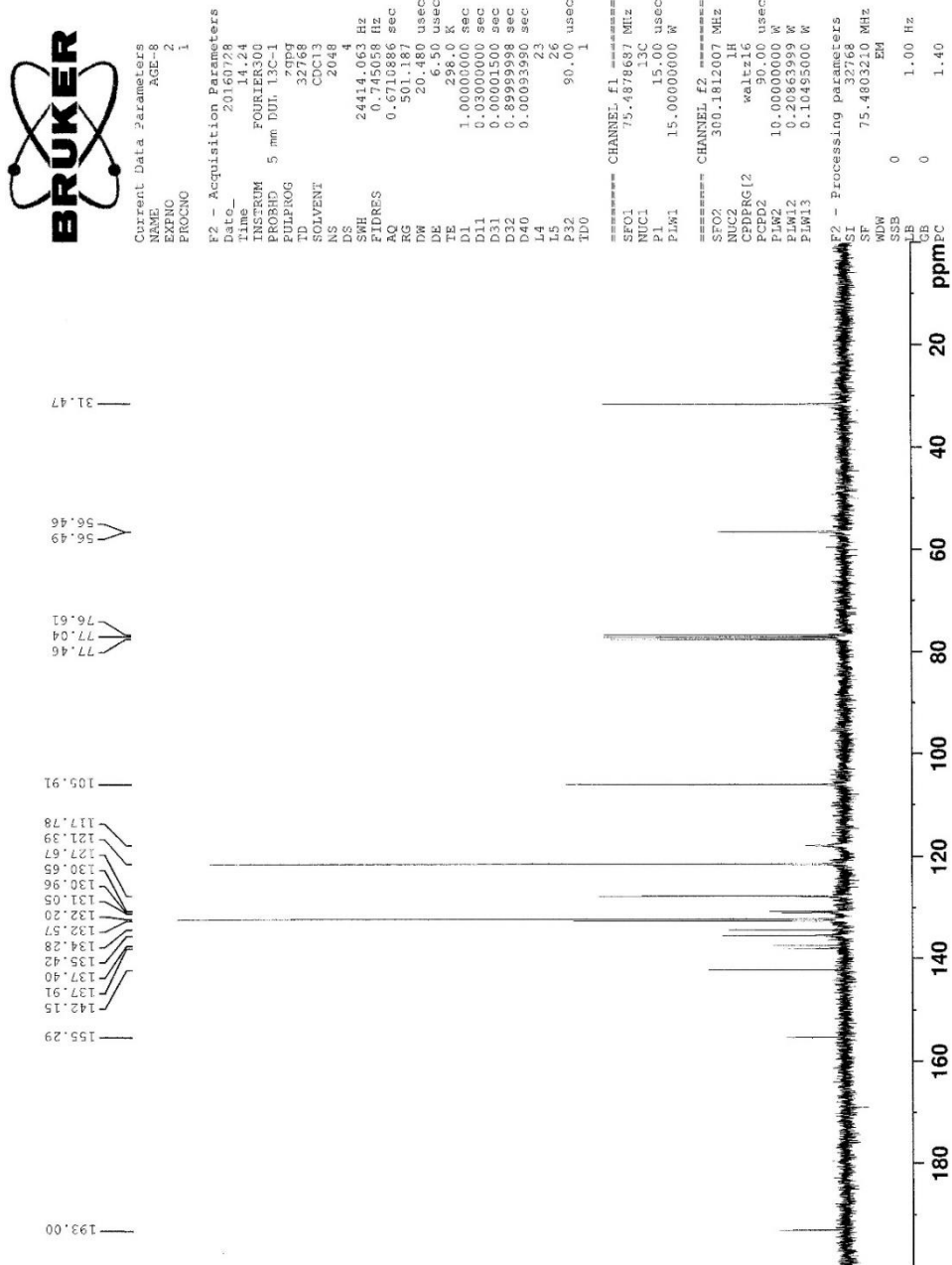
===== CHANNEL f1 =====
 SFO1 300.1418537 MHz
 NUC1 13C
 P1 13.00 usec
 PLW1 10.0000000 W

F2 - Processing parameters
 SI 65536
 SF 300.1800000 MHz
 MDW EM
 SSB 0
 GB 0
 PC 1.00

7.2579
 7.2738
 7.2764
 7.3546
 7.3879
 7.4837
 7.5120
 7.5839
 7.6501
 7.7460
 7.7744
 7.9509



EK 47. Bileşik 8 için ¹³C-NMR spektrumu (0-190 ppm)



EK 48. Bileşik 8 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE8_8.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\hmet\AGE8_8.lcd

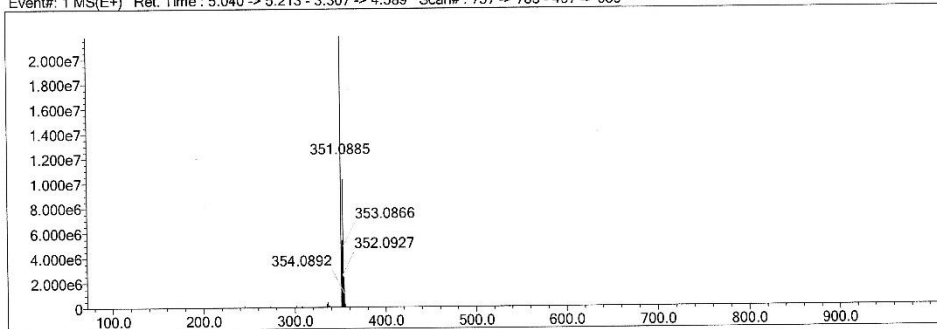
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	22	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	3	S	2	0	0					

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

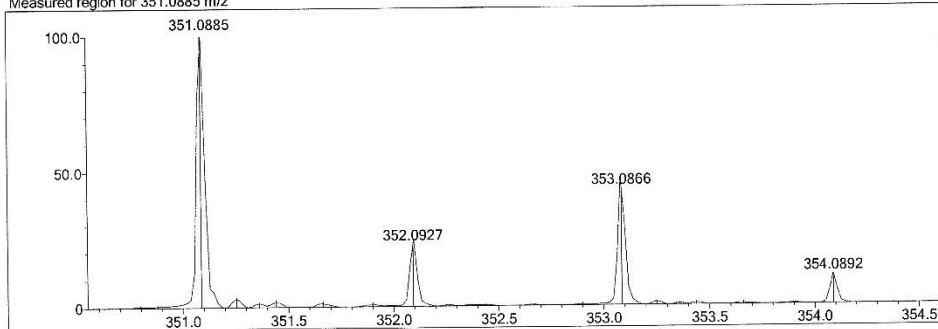
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

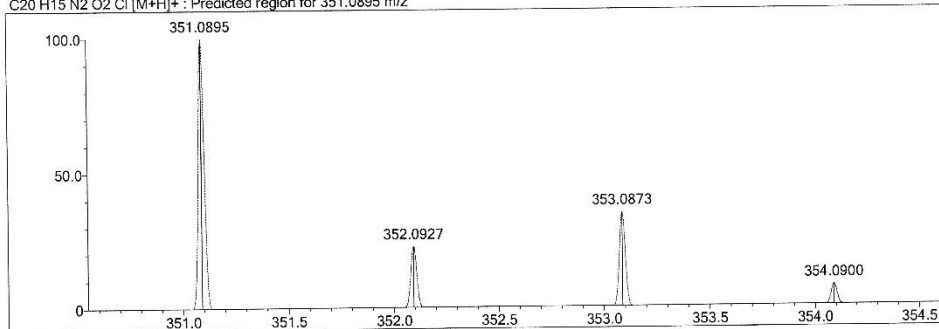
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 5.040 -> 5.213 - 3.307 -> 4.589 Scan#: 757 -> 783 - 497 -> 689



Measured region for 351.0885 m/z

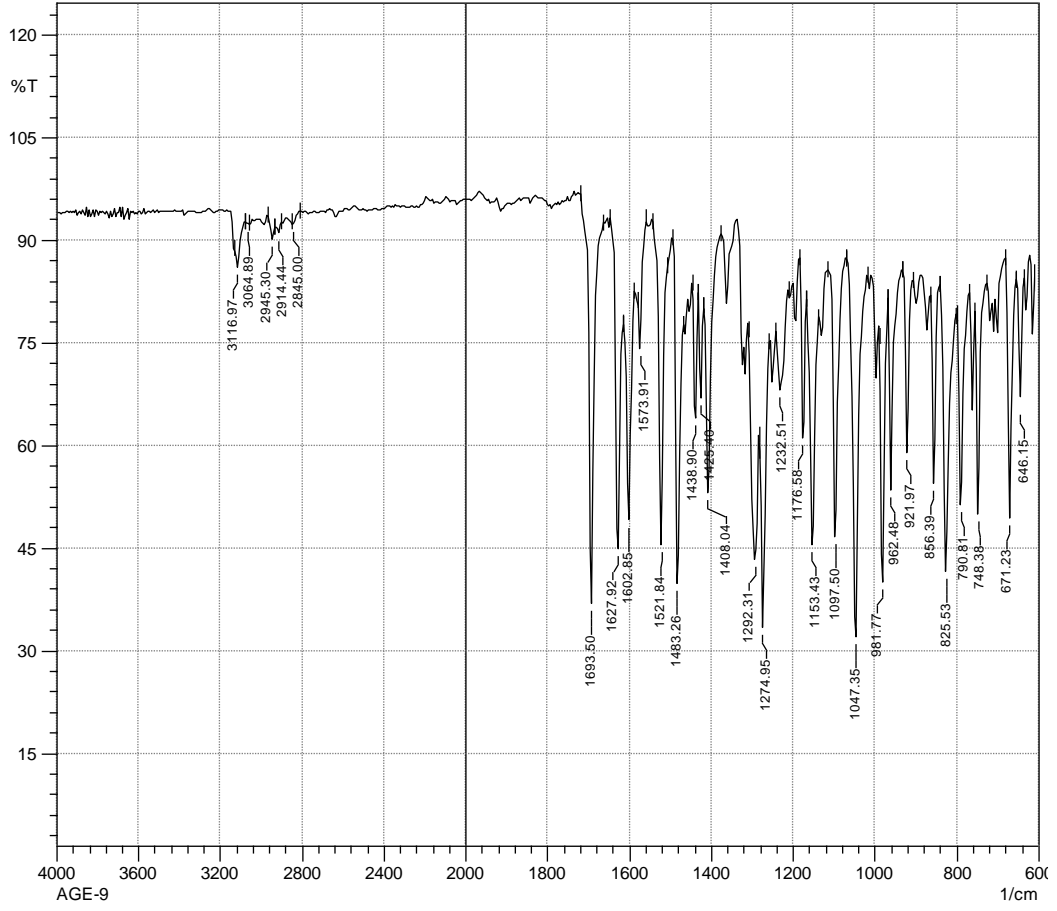


C20 H15 N2 O2 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 351.0895 m/z

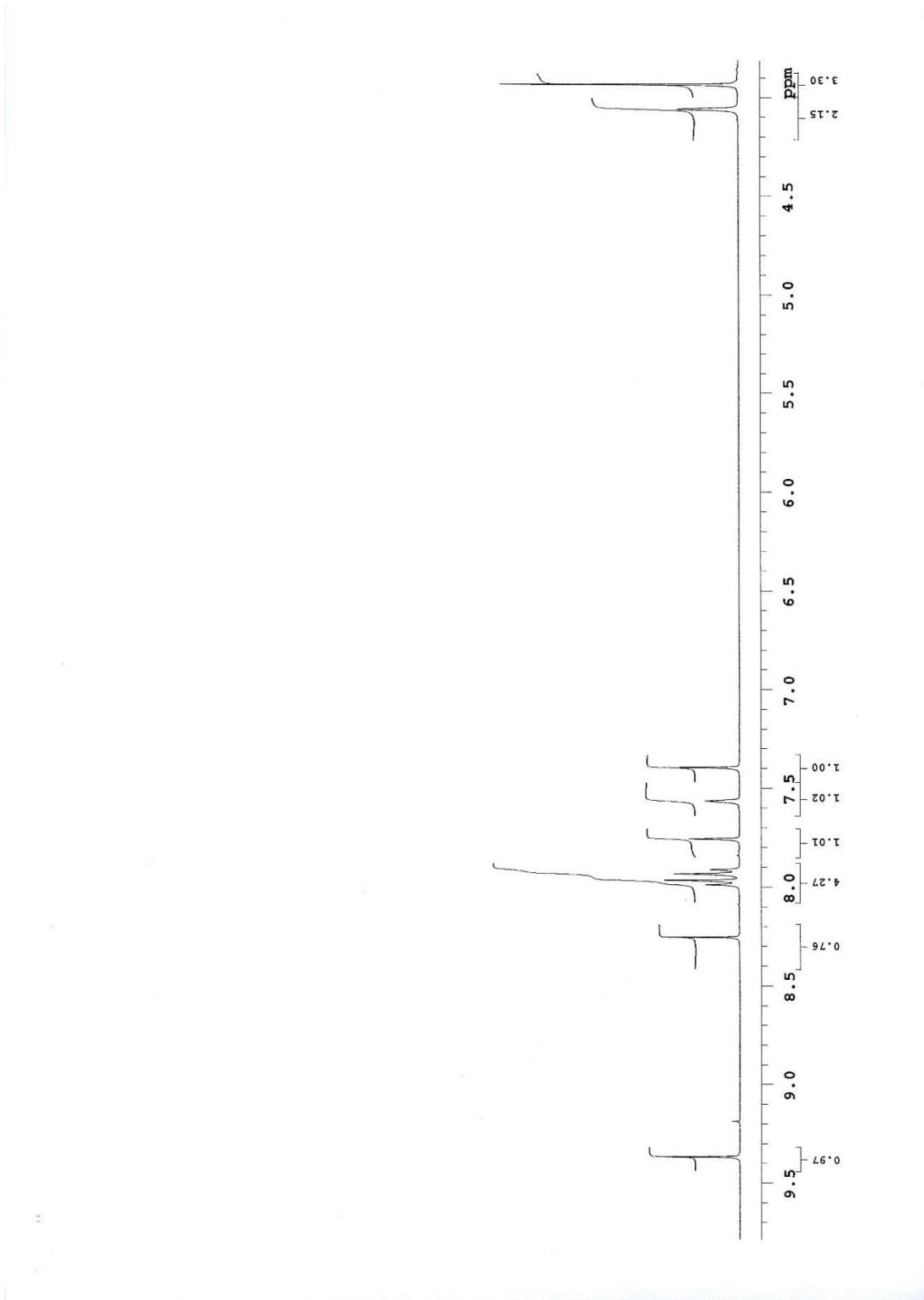


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	75.44	C20 H15 N2 O2 Cl	[M+H] ⁺	351.0885	351.0895	-1.0	-2.85	79.10	14.0

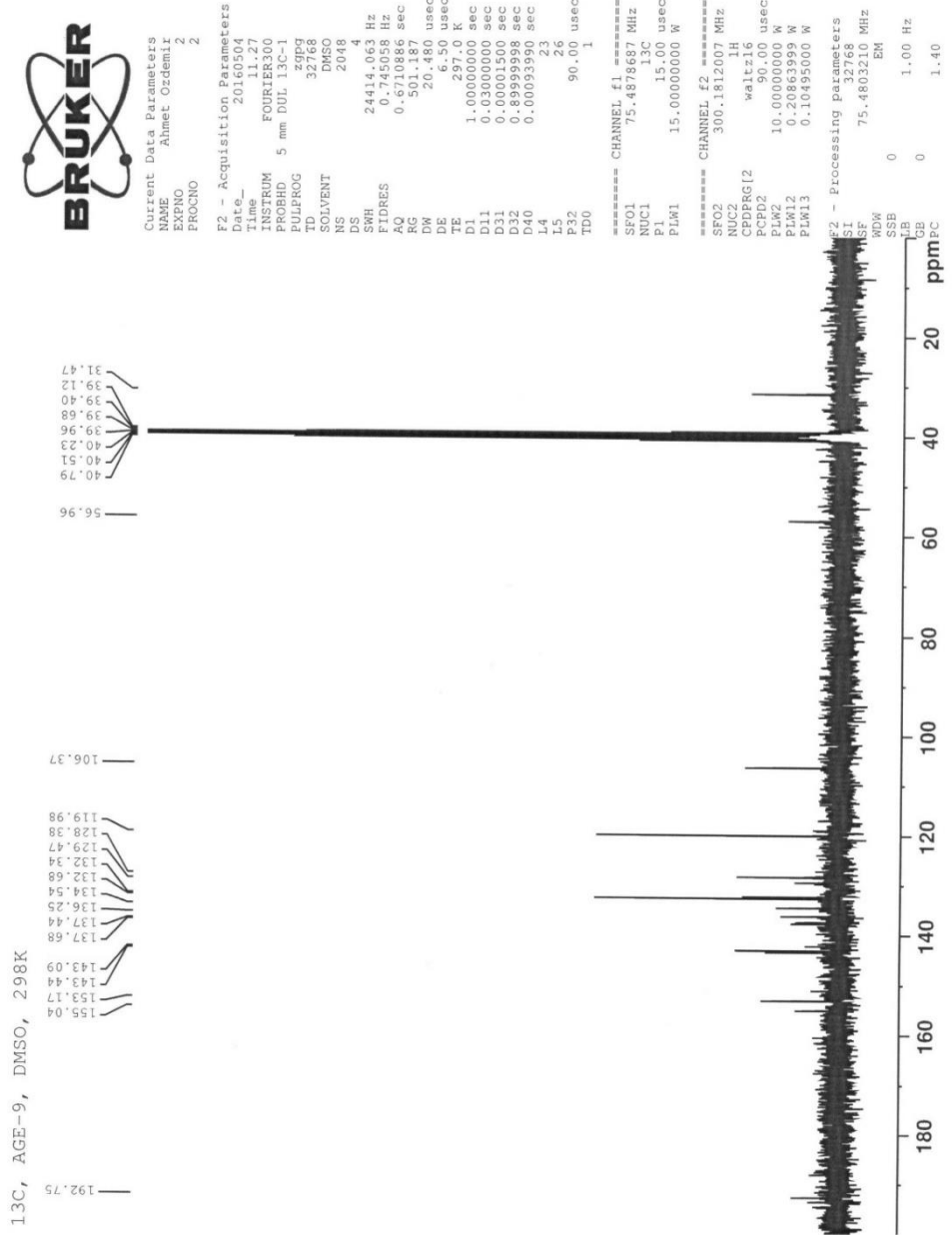
EK 49. Bileşik 9 için IR spektrumu



EK 50. Bileşik **9** için $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (3.5-10 ppm)



EK 51. Bileşik 9 için ¹³C-NMR spektrumu (0-200 ppm)



EK 52. Bileşik 9 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE9_9.Icd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analizahmet\AGE9_9.Icd

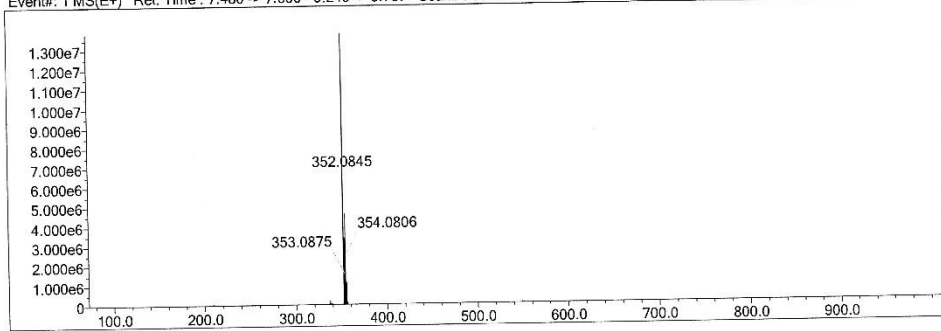
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	3	Cl	1	0	1	H
C	4	1	22	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	3	S	2	0	0					

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

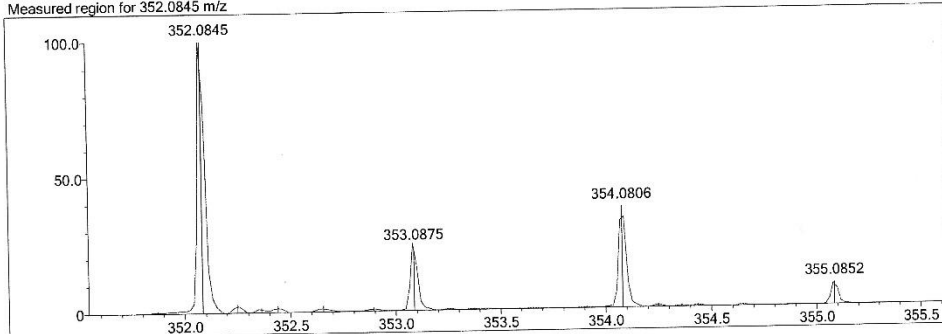
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

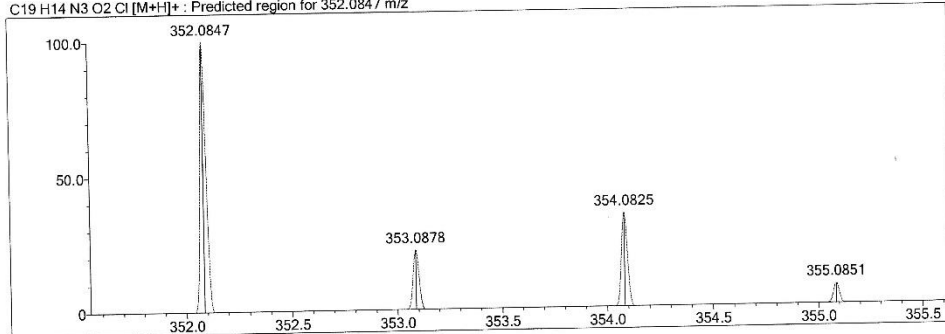
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 7.480 -> 7.600 - 9.240 -> 9.707 Scan#: 1123 -> 1141 - 1387 -> 1457



Measured region for 352.0845 m/z

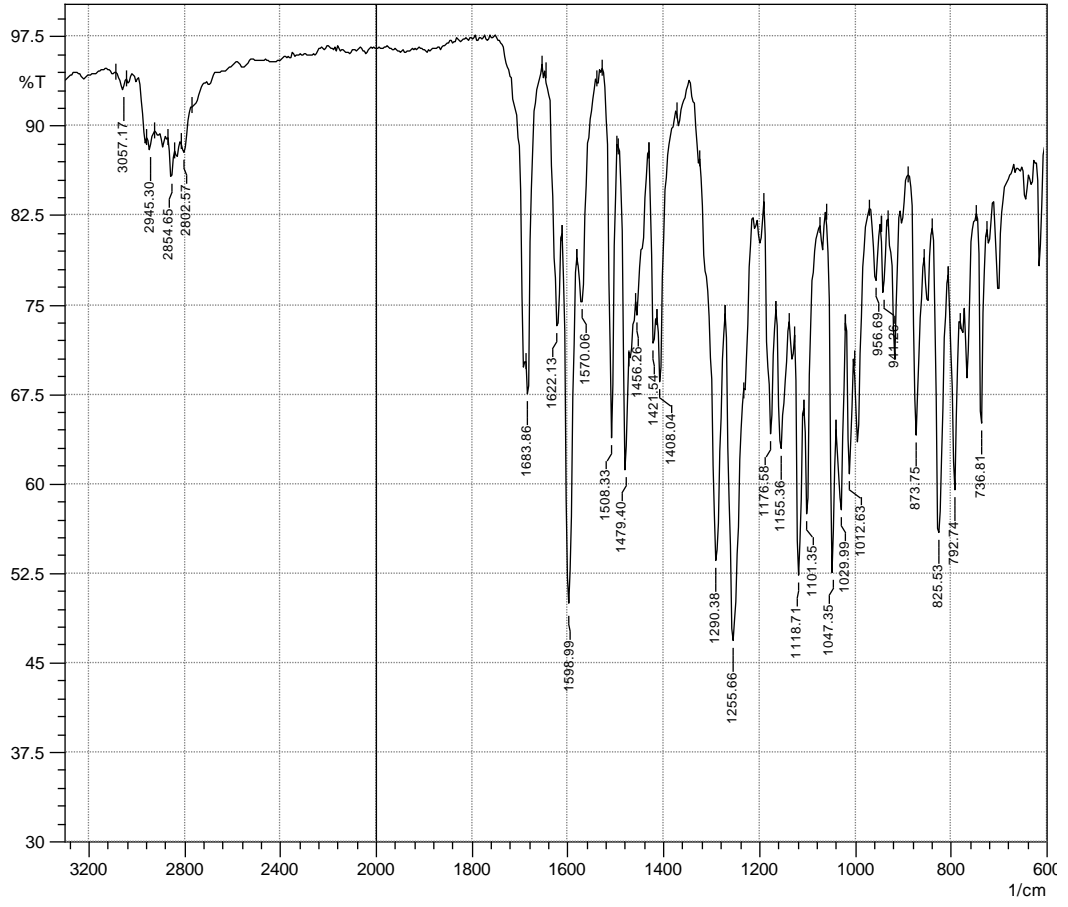


C19 H14 N3 O2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 352.0847 m/z

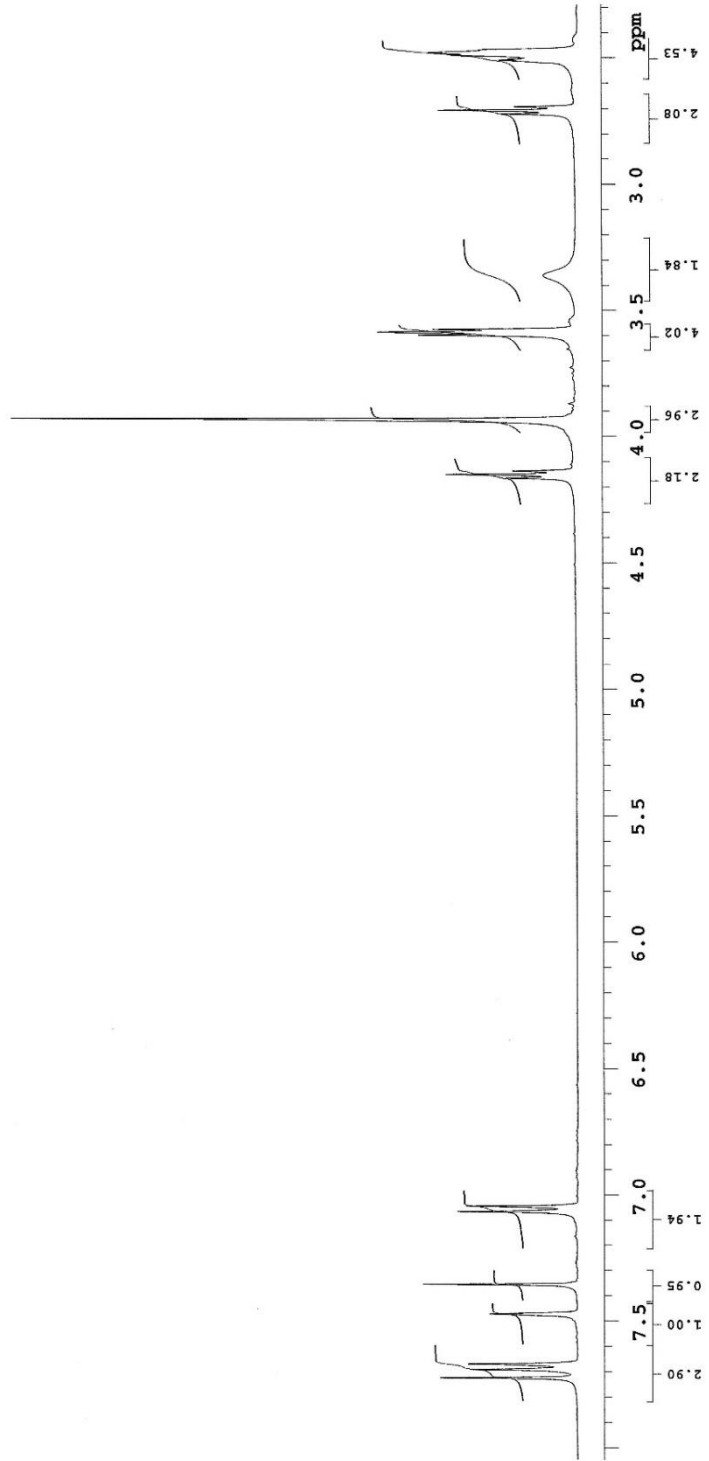


Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	78.09	C19 H14 N3 O2 Cl	[M+H] ⁺	352.0845	352.0847	-0.2	-0.57	78.09	14.0

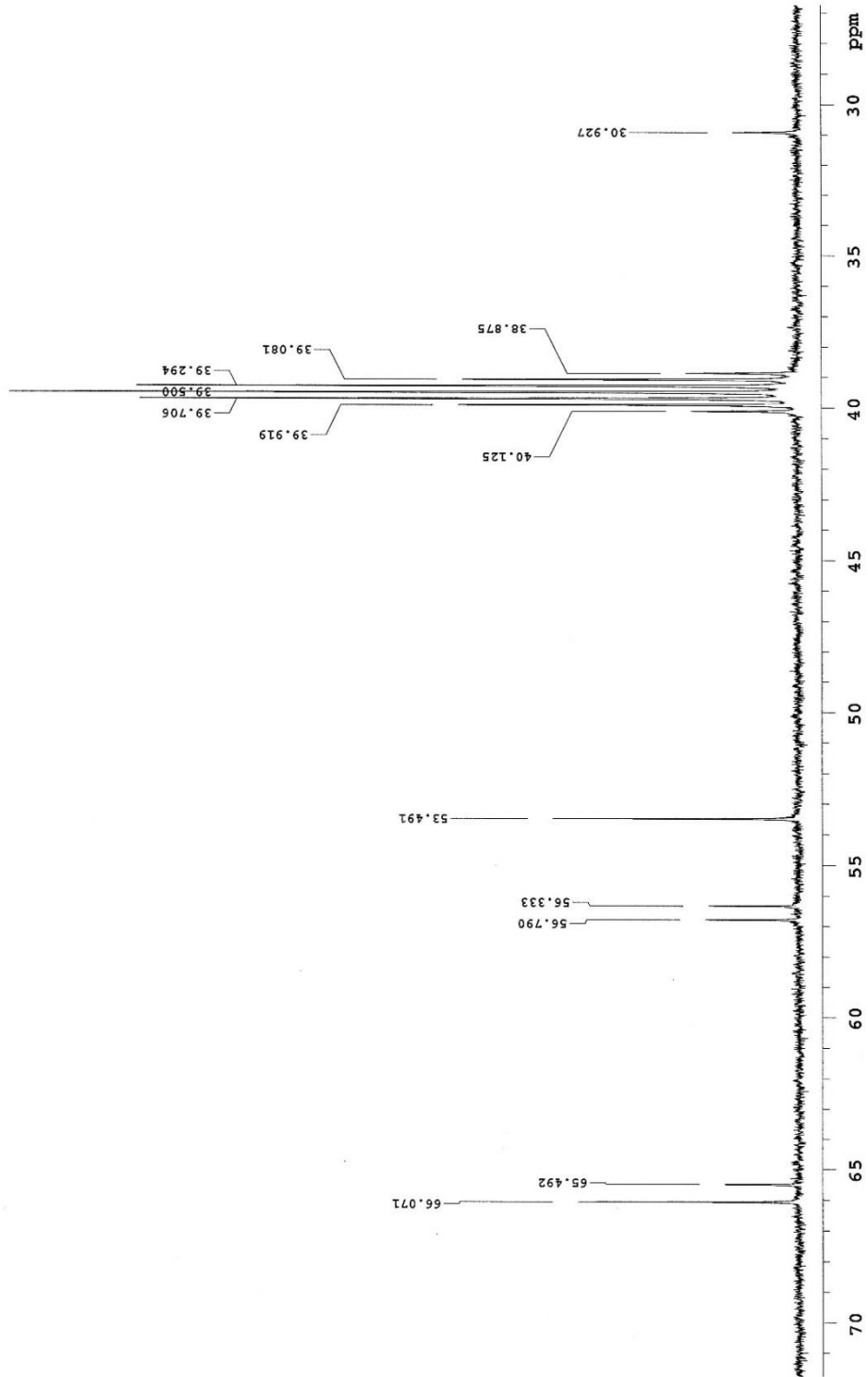
EK 53. Bileşik 10 için IR spektrumu



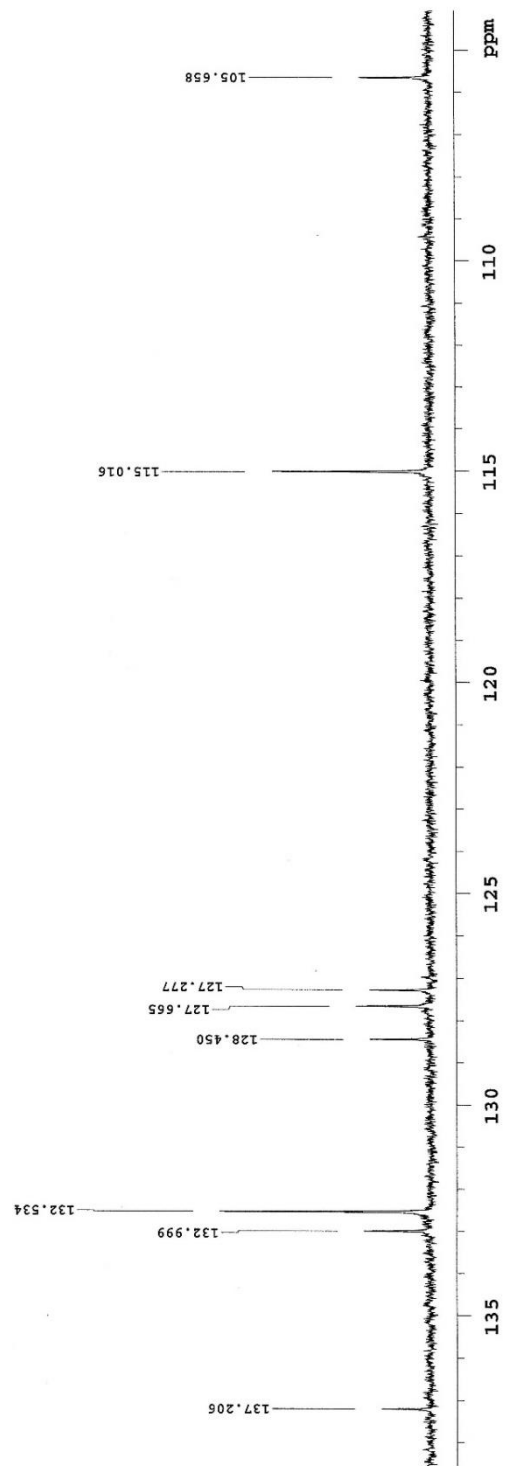
EK 54. Bileşik **10** için ^1H -NMR spektrumu (2.5-8 ppm)



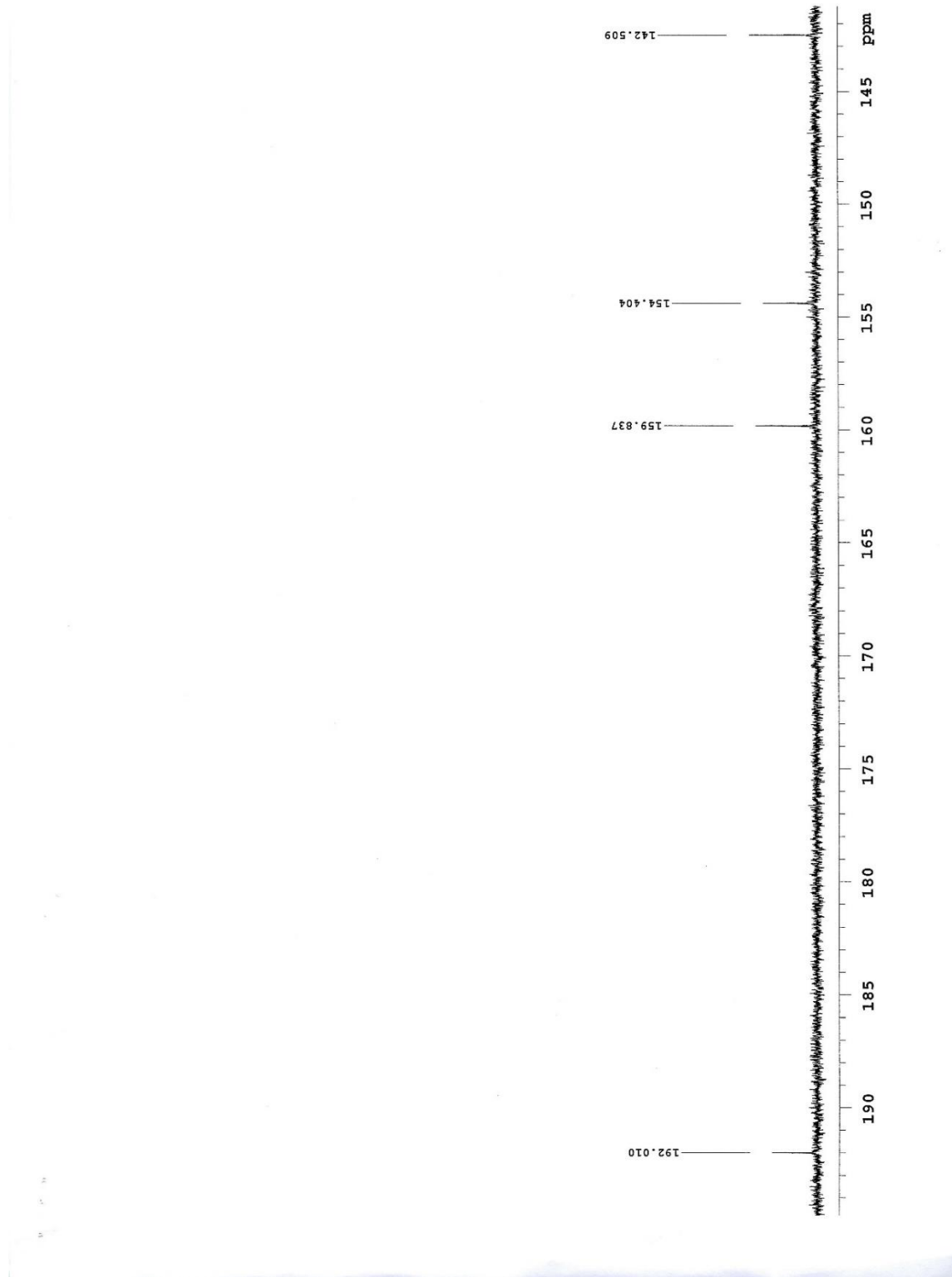
EK 55. Bileşik 10 için ^{13}C -NMR spektrumu (70-30 ppm)



EK 56. Bileşik **10** için ^{13}C -NMR spektrumu (100-140 ppm)



EK 57. Bileşik **10** için ^{13}C -NMR spektrumu (142-193 ppm)



EK 58. Bileşik 10 için Mass spektrumu

Formula Predictor Report - AGE10_10.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\ahmet\AGE10_10.lcd

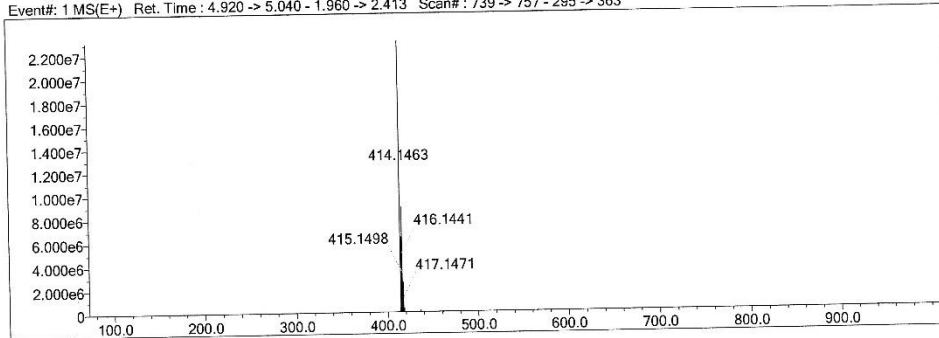
Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Elmt	Val.	Min	Max	Use Adduct
H	1	1	40	O	2	0	4	Cl	1	0	1	H
C	4	1	23	F	1	0	0	Br	1	0	0	
N	3	0	3	S	2	0	0					

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

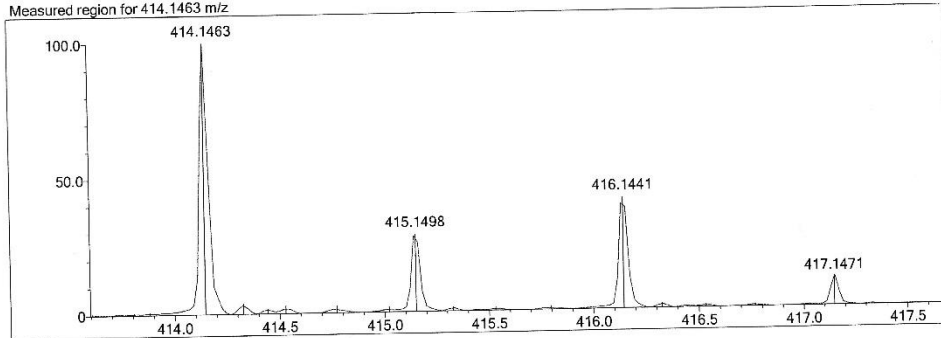
DBE Range: 0.0 - 20.0
 Apply N Rule: yes
 Isotope RI (%): 1.00
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both
 Use MSn Info: no
 Isotope Res: 10000
 Max Results: 500

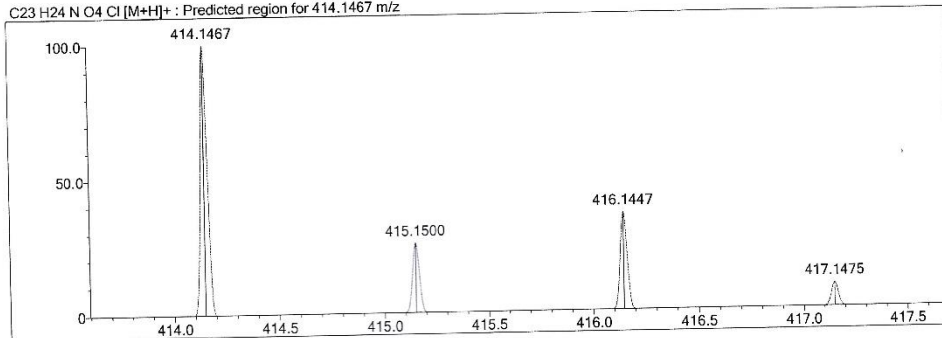
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 4.920 -> 5.040 - 1.960 -> 2.413 Scan#: 739 -> 757 - 295 -> 363



Measured region for 414.1463 m/z



C23 H24 N O4 Cl [M+H]⁺ : Predicted region for 414.1467 m/z



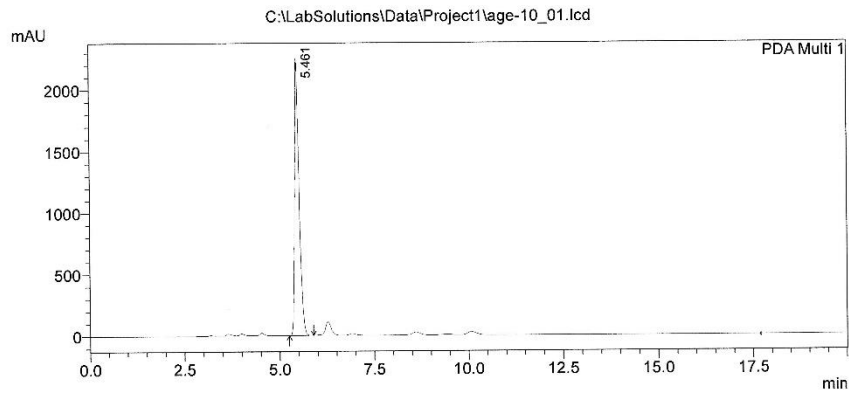
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	94.58	C23 H24 N O4 Cl	[M+H] ⁺	414.1463	414.1467	-0.4	-0.97	94.58	12.0

EK 59. Bileşik 10 için HPLC spektrumu

==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\age-10_01.lcd
Acquired by : Admin
Sample Name : age-10
Sample ID :
Tray# : 1
Vial # : -1
Injection Volume : 20 uL
Data File Name : age-10_01.lcd
Method File Name : 85acn15water.lcm
Batch File Name :
Report File Name : Default.lcr
Data Acquired : 07.04.2016 12:41:25
Data Processed : 07.04.2016 13:01:28

<Chromatogram>



1 PDA Multi 1/254nm 4nm

Peak Table

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	5.461	18530274	2247571	100.000	100.000
Total		18530274	2247571	100.000	100.000