

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**KİNAZOLİN TEMELLİ KİRAL TİYOÖRE TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE MCF-7 KANSER HÜCRE HATTINDAKİ
SİTOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Kardelen Damla ALKİM

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ALTAY

TEZ JÜRİ ÜYELERİ
Prof. Dr. Ahmet ALTAY
Prof. Dr. Harun BUDAK
Doç. Dr. Mustafa ÇATIR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ERZİNCAN, 2026

Kabul ve Onay Sayfası

Prof. Dr Ahmet ALTAY danışmanlığında, Kardelen Damla ALKIM tarafından hazırlanan bu çalışma 21.09.2026 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından KİMYA Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans olarak kabul oybirliği (3/3) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Harun BUDAK İmza:

Üye : Prof. Dr. Ahmet ALTAY İmza:

Üye : Doç. Dr. Mustafa ÇATIR İmza:

Yukarıdaki Yüksek Lisans/Doktora Tezi Enstitü Yönetim Kurulunun / / 20.... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kemal Volkan ÖZDOKUR
Enstitü Müdürü

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

Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası

“Kardelen Damla ALKIM” isimli “Yüksek Lisans” tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiğı gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 21/09/2026

(İmza)

Kardelen Damla ALKIM

ÖZET

KINAZOLİN TEMELLİ KİRAL TİYOÜRE TÜREVLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE MCF-7 KANSER HÜCRE HATTINDAKİ SİTOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kardelen Damla ALKIM

**Yüksek Lisans Tezi, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ALTAY

2026, 93 sayfa

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türlerinden biri olup önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Mevcut kemoterapötik ajanların tedavi sırasında yan etki ve toksisiteye neden olabilmesi, yeni ve daha etkili antikanser bileşiklerin geliştirilmesine yönelik araştırmaları gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada, biyolojik aktivite gösterdiği bildirilen tiyoüre yapısından yararlanılarak yeni kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin sentezlenmesi ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. L-alanin, L-valin ve L-fenilalanin türevlerinden hareketle kinazolinon türevleri sentezlenmiş; klorlama, indirgenme ve koruyucu grup uzaklaştırma reaksiyonlarının ardından kiral kinazolin aminler elde edilmiştir. Son aşamada aminlerin aril izotiyosiyanatlarla reaksiyonu sonucunda hedef kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşikleri %80'in üzerinde verimlerle sentezlenmiştir. Bileşiklerin yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve IR spektroskopileri ile karakterize edilmiştir. Antiproliferatif aktiviteler, MCF-7 insan meme kanseri ve HUH-7 hepatoselüler karsinom hücre hatlarında MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Özellikle 8a grubu bileşiklerin MCF-7 hücrelerinde karboplatin ve dosetaksel ile karşılaştırıldığında daha düşük IC₅₀ değerleri gösterdiği belirlenmiştir. 8a serisi bileşiklerin HUH-7 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre daha yüksek IC₅₀ değerlerine sahip olması, hücre modelleri arasında farklı duyarlılık bulunduğunu göstermiştir. Ancak HUH-7 hücrelerinin normal karaciğer hücrelerini temsil etmediği dikkate alınmalıdır. Serinin en aktif bileşiği 8a2'nin apoptotik etkisi Annexin V-FITC/PI çift boyama ve akış sitometrisi ile incelenmiş; 24 saatlik uygulama sonrasında apoptotik hücre oranında konsantrasyona bağlı artış

gözlenmiştir. Elde edilen bulgular, özellikle 8a serisi bileşiklerin MCF-7 hücrelerindeki antiproliferatif etkilerinin ileri çalışmalar açısından değerlendirilmesini desteklemektedir. Bu bileşiklerin antikanser adayları olarak değerlendirilmesi için farklı kanser ve normal hücre modellerinde seçicilik ve moleküler mekanizma çalışmalarının yanı sıra in vivo araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: MCF-7, kinazolin, kiral tiyoüre, asimetrik sentez, meme kanseri.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF QUINAZOLINE-BASED CHIRAL THIOUREA DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR CYTOTOXIC AND APOPTOTIC EFFECTS ON THE MCF-7 CANCER CELL LINE

Kardelen Damla ALKIM

**Master's Thesis, Erzincan Binali Yıldırım University,
Institute of Science and Technology, Department of Chemistry**

Advisor: Prof. Dr. Ahmet ALTAY

2026, 93 pages

Breast cancer is one of the most common cancer types in women and represents a major health concern worldwide. The adverse effects and toxicity associated with existing chemotherapeutic agents necessitate the development of new and more effective anticancer compounds. In this study, the synthesis of novel quinazoline-based chiral thiourea compounds and the investigation of their biological activities were aimed based on the thiourea scaffold, which has been reported to exhibit various biological activities. Quinazolinone derivatives were synthesized from L-alanine, L-valine, and L-phenylalanine derivatives, followed by chlorination, reduction, and deprotection reactions to obtain chiral quinazoline amines. In the final step, the amines were reacted with aryl isothiocyanates to afford the target quinazoline-based chiral thiourea compounds in yields above 80%. The structures of the synthesized compounds were characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, and IR spectroscopy. Their antiproliferative activities were evaluated against MCF-7 human breast cancer and HUH-7 hepatocellular carcinoma cell lines using the MTT assay. In MCF-7 cells, particularly the 8a series compounds exhibited lower IC_{50} values than carboplatin and docetaxel. The higher IC_{50} values of the 8a series in HUH-7 cells compared with MCF-7 cells indicated differential sensitivity between the two cell models. However, HUH-7 cells should not be considered representative of normal liver cells. The apoptotic effect of the most active compound, 8a2, was further investigated using Annexin V-FITC/PI double staining and flow cytometry. A concentration-dependent increase in the proportion of apoptotic cells was observed after 24 h of treatment. These findings support

further investigation of the antiproliferative effects of the 8a series, particularly in MCF-7 cells. Further studies involving selectivity assessment in different cancer and normal cell models, molecular mechanism investigations, and in vivo studies are required to evaluate these compounds as potential anticancer candidates.

Keywords: MCF-7, quinazoline, chiral thiourea, asymmetric synthesis, breast cancer

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın hazırlanması ve tamamlanması sürecinde bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik eden değerli danışmanım **Prof. Dr. Ahmet Altay’a** teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, akademik gelişimime katkı sağlayan, sabırla yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli hocam **Doç. Dr. Mustafa Çatır’a** gönülden teşekkür ederim. Kendisine, mesleki ve akademik açıdan kazandırdığı değerlerin yanı sıra, bana duyduğu güven ve aşıladığı özgüven için ayrıca minnettarım.

Bu tez çalışmasının yürütülmesine ve araştırma sürecinin gerçekleştirilmesine **223Z239** numaralı proje kapsamında sağladığı finansal destekten dolayı **TÜBİTAK’a** teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her döneminde olduğu gibi tez hazırlama sürecinde de sevgileri, sabırları ve destekleriyle yanımda olan **aileme** teşekkür ederim. Varlıkları, karşılaştığım güçlükler karşısında en büyük dayanağım ve motivasyon kaynağım olmuştur.

Kardelen Damla ALKİM

09.2026

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
EKLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Kanser ve Önemi	1
1.2. Kanser Hücrelerinin Özellikleri	2
1.3. Meme Kanseri.....	5
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
2.1. Amaç	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Amino Asitlerden (1a-c) Amit 3 ve Kinazolinon (4a-c) bileşiklerinin elde edilmesi	16
3.2. Aminokinazolin Bileşikleri 7a-c'nin Sentezleri	17
3.3. Aminokinazolinlerin Arilizotiyosiyanatlar İle Etkileştirilmesi ve Hedef Kiral Tiyoüre Bileşiklerinin Sentezlenmesi	18
3.4. Sentezlenen Tiyoürelerin Karakterizasyonlarının Yapılması	18
3.5. Hücre Proliferasyon Testi.....	19
3.6. Flow Sitometri Analizleri	20
4. BULGULAR	22
4.1. Genel Yöntemler	22
4.2. Deneyler	23
4.2.1. (S)-AlaninNHBoc (2a) sentezi	23
4.2.2. (S)-ValinNHBoc (2b) sentezi.....	24
4.2.3. (S)-FenilalaninNHBoc (2c) sentezi	24
4.2.4. (S)-Amit (3a) sentezi.....	25
4.2.5. (S)-Amit (3b) sentezi.....	26
4.2.6. (S)-Amit (3c) sentezi.....	26
4.2.7. (S)-KinazolinonNHBoc (4a) sentezi	27

4.2.8. (S)-KinazolinonNHBoc (4b) sentezi	28
4.2.9. (S)-KinazoinonNHBoc (4c) sentezi	28
4.2.10. (S)-4-KlorokinazolinNHBoc (5a) sentezi	29
4.2.11. (S)-4-KlorokinazolinNHBoc (5b) sentezi.....	30
4.2.12. (S)-4-KlorokinazolinNHBoc (5c) sentezi	30
4.2.13. (S)-KinazolinNHBoc (6a) sentezi	31
4.2.14. (S)-KinazolinNHBoc (6b) sentezi	32
4.2.15. (S)-KinazolinNHBoc (6c) sentezi	32
4.2.16. (S)-1-(Kinazolin-2-il)etan-1-amin (7a) sentezi	33
4.2.17. (S)-2-Metil-1-(kinazolin-2-il)propan-1-amin (7b) sentezi	34
4.2.18. (S)-2-Fenil-1-(kinazolin-2-il)etan-1-amin (7c) sentezi.....	34
4.2.19. (S)-1-(1-(kinazolin-2-il)etil)-3-(2-(triflorometil)fenil)tiyoüre (8a1)	35
4.2.20. (S)-1-(3,5-bis(triflorometil)fenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a2)	35
4.2.21. (S)-1-(4-florofenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a3).....	36
4.2.22. (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a4)	36
4.2.23. (S)-1-(4-florofenil)-3-(2-metil-1-(kinazolin-2-il)propil)tiyoüre (8b3)	37
4.2.24. (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(2-metil-1-(kinazolin-2-il)propil)tiyoüre (8b4).....	37
4.2.25. (S)-1-(4-florofenil)-3-(2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8c3)	38
4.2.26. (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8c4)	38
4.3. 8a1-8c4'ün MCF-7 (İnsan Meme Kanseri) ve HUH-7 (Karaciğer Kanseri) Hücre Hatları Üzerindeki Antiproliferatif Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	39
4.4. 8a2 Bileşiğinin MCF-7 Hücrelerinde Hücre Ölümü ve Apoptoz Üzerine Etkisi	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
6. ÖNERİLER.....	51
KAYNAKÇA.....	52
EKLER.....	60
ÖZGEÇMİŞ	93

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Bazı tiyoürelerin çeşitli anti-kanser aktiviteleri için IC ₅₀ değerleri.....	13
Tablo 4.3.1. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin (8a1-c4) ve referans kemo terapötik ilaçlar karboplatin ve dosetakselin farklı kanser hücre hatları üzerindeki anti proliferatif aktivitelerinin IC ₅₀ değerleri (µM).	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Anti-kanser, antifungal ve antibakteriyel aktivite gösteren kinazolin(on) türevleri	11
Şekil 2.2. Çalışma kapsamında kullanılan kiral tiyoürelerin genel şeması	14
Şekil 3.1. Kiral tiyoürelerin genel olarak sentez basamakları.....	15
Şekil 3.1.1. Kinazolinonlar 4'ün sentezi.....	16
Şekil 3.2.1. Kinazolin aminler 7a-c'nin sentezi	17
Şekil 3.3.1. Kiral tiyoüreler 8'in sentezi.....	18
Şekil 4.3.1. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin ve kemoterapötik ilaçların MCF-7 hücre hattı üzerindeki doz bağımlı antiproliferatif etkileri	39
Şekil 4.3.2. Kinazolin temelli kiral tiyoüre türevlerinden 8a grubu bileşiklerin MCF-7 kanser hücre hattı üzerindeki doz bağımlı antiproliferatif etkileri	39
Şekil 4.3.3. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiği 8a2'nin MCF-7 kanser hücre hattı üzerindeki doz bağımlı antiproliferatif etkisine ait mikroskopik görüntüleri	40
Şekil 4.4.1. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiği 8a2'nin MCF-7 hücreleri üzerindeki doz bağımlı apoptotik etkisi	41
Şekil 4.4.2. Grafiksel özet.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklama
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HUH-7	İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
IC₅₀	Hücrelerin %50'sini Öldüren Doz
MCF-7	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PI	Propidyum İyodür
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
APAF1	Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1
BAX	BCL-2 İlişkili X Proteini
BCL-2	B-Hücreli Lenfoma 2
BH3	BCL-2 Homoloji 3
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ER	Östrojen Reseptörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
p53	Tümör Baskılayıcı Protein 53
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
ark.	Ve Arkadaşları

1. GİRİŞ

Kanser, günümüzde yüksek hastalık ve ölüm yükü nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu olmayı sürdürmektedir. Kanser gelişiminin çok sayıda hücrel ve moleküler mekanizmanın etkileşimiyle şekillenmesi, hastalığın tedavisinde farklı moleküler hedeflere yönelik yeni yaklaşımların araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Mevcut tedavilerin toksisite, yan etkiler ve tedavi direnci gibi sınırlılıkları ise daha etkili ve seçici antikanser bileşiklerin geliştirilmesine yönelik çalışmaları desteklemektedir.

Bu gereksinim doğrultusunda, farklı farmakoforik yapıların aynı moleküler sistem içerisinde bir araya getirilmesi yeni bileşiklerin tasarımında kullanılan yaklaşımlardan biridir. Kinazolin ve tiyoüre gruplarının biyolojik açıdan taşıdığı potansiyel, bu yapıların antikanser özelliklerinin araştırılmasına yönelik ilgiyi desteklemektedir. Bununla birlikte, kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve meme kanseri hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkilerinin birlikte ele alındığı çalışmaların sınırlı olması, bu alanda araştırılması gereken bir konuya işaret etmektedir.

Bu tez çalışmasında, kinazolin ve tiyoüre yapılarının aynı moleküler çatı altında birleştirilmesiyle oluşturulan kiral bileşiklerin sentezlenmesi ve yapısal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Doğal amino asitlerden türetilen kiral yapıların moleküler tasarıma dahil edilmesiyle elde edilen bileşiklerin kimyasal karakterizasyonları gerçekleştirilmiş ve biyolojik etkileri MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde değerlendirilmiştir. Böylece sentezlenen kinazolin temelli kiral tiyoürelerin yapısal özellikleri ile antiproliferatif aktiviteleri arasındaki ilişkinin incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler, bu bileşiklerin meme kanseri araştırmalarındaki potansiyelinin değerlendirilmesine yönelik bir temel oluşturması açısından ele alınmıştır.

1.1 Kanser ve Önemi

Kanser, uzun süreli tedavi gerektirmesi ve hastaların yaşam kalitesi üzerindeki etkileri nedeniyle bireysel ve toplumsal açıdan önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Hastalığın fiziksel sonuçlarının yanı sıra psikolojik, sosyal ve ekonomik açıdan da uzun süreli sonuçlar doğurabilmesi, kanserle mücadeleyi yalnızca klinik tedaviyle sınırlı olmayan bir araştırma alanı hâline getirmiştir. Meme kanseri ise dünya genelinde en sık görülen kanser türleri arasında

bulunmakta ve özellikle kadınlarda kanser kaynaklı hastalık yükünün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Tong ve ark., 2018). Meme kanserinin küresel ölçekteki yaygınlığı, hastalığın toplum sağlığı açısından taşıdığı yükü açık biçimde göstermektedir. Dünya genelinde 2020 yılında yaklaşık 2,3 milyon yeni meme kanseri vakası bildirilmiş ve aynı yıl yaklaşık 685 bin ölüm meme kanserine bağlanmıştır (Sung ve ark., 2021). Kanser insidansı ve buna bağlı mortalitedeki artış eğilimi, hastalığın biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına yönelik araştırmaların yanı sıra erken tanı, tarama ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesini de gerekli kılmıştır (World Health Organization [WHO], 2021). Kanser küresel sağlık yükündeki payı göz önüne alındığında, hastalığın önlenmesi ve tedavisine yönelik araştırmaların sürdürülmesi önem taşımaktadır. Kanser tedavisinde cerrahi girişimler, radyoterapi, kemoterapi ve hedefe yönelik tedaviler gibi farklı yaklaşımlardan yararlanılmaktadır. Bununla birlikte, özellikle geleneksel kemoterapötik ajanların tümör hücreleri ile normal hücreler arasındaki seçiciliğinin sınırlı olması, tedavi sırasında çeşitli istenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Sistemik toksisite, doz sınırlayıcı yan etkiler, tedaviye bağlı yaşam kalitesindeki düşüş ve ekonomik yük, mevcut tedavi yaklaşımlarının başlıca kısıtlılıkları arasında değerlendirilmektedir (Peer ve ark., 2007; Wefel ve Schagen, 2012; Vera-Badillo ve ark., 2013). Bu nedenle kanser hücreleri üzerinde daha seçici etki gösterebilen ve normal dokulardaki toksisiteyi azaltmayı hedefleyen yeni terapötik ajanların araştırılması önem kazanmıştır. Yeni antikanser bileşiklerin geliştirilmesinde temel amaçlardan biri, terapötik etkinliği artırırken istenmeyen etkilerin mümkün olduğunca sınırlandırılmasıdır. Hedefe yönelik tedavi yaklaşımları, kanser hücrelerinde değişime uğrayan belirli moleküler yapıların veya sinyal yollarının hedeflenmesine dayanmakta ve bu yönüyle geleneksel sitotoksik tedavilere alternatif veya tamamlayıcı seçenekler sunmaktadır (Allen, 2002; Davis ve ark., 2008). Bu tür ajanların tasarımında hücre yüzey reseptörleri, hücre içi sinyal iletim mekanizmaları ve kanser gelişiminde rol oynayan diğer moleküler hedefler dikkate alınmaktadır (Hynes ve Lane, 2005; Sinha ve ark., 2006). Kanser biyolojisinin moleküler düzeyde daha iyi anlaşılması, yeni hedeflerin belirlenmesine ve bu hedeflere yönelik bileşiklerin geliştirilmesine yönelik çalışmaların temelini oluşturmaktadır.

1.2. Kanser Hücrelerinin Özellikleri

MCF-7 hücre hattı, meme kanserinin hücresel ve moleküler özelliklerinin araştırılmasında uzun yıllardır kullanılan deneysel modellerden biridir. İnsan meme adenokarsinomundan köken alan bu hücre hattı, 1970 yılında 69 yaşındaki bir kadın hastanın metastatik meme karsinomuna bağlı

olarak gelişen plevral efüzyonundan elde edilen hücrelerden geliştirilmiştir (Soule ve ark., 1973). MCF-7 hücrelerinin meme epiteline özgü bazı özellikleri koruması, bu hücrelerin meme kanseri araştırmalarında tercih edilmesinin temel nedenleri arasında yer almaktadır. Hücre kültürü koşullarında epitel hücrelerine benzer morfolojik özellikler göstermeleri ve belirli koşullarda karakteristik hücresel yapılar meydana getirmeleri, MCF-7 hücrelerinin tümör hücrelerinin biyolojik davranışlarının incelenmesine olanak sağlamaktadır. Soule ve ark. (1973), MCF-7 hücrelerinde sitoplazmik östrojen reseptörünün bulunduğunu ve uygun kültür koşullarında kubbe benzeri yapıların oluşabildiğini bildirmiştir. Bu özellikler, hücre hattının meme epiteli ile ilişkili fenotipik özelliklerinin belirli ölçüde korunduğunu göstermektedir.

MCF-7 hücrelerinin karakteristik özelliklerinden biri de östrojen reseptörü (ER) ekspresyonudur. Daha sonraki araştırmalarda MCF-7 hücrelerinin ER pozitif özellik taşıdığı doğrulanmış ve bu hücre hattı hormon reseptörü pozitif meme kanserinin biyolojik özelliklerinin araştırılmasında yaygın biçimde kullanılmıştır (Levenson ve Jordan, 1997; Subik ve ark., 2010). Östrojen reseptörlerinin varlığı, hücrelerin östrojen aracılı sinyalizasyon mekanizmalarına yanıt verebilmesini mümkün kılmaktadır. Bu nedenle MCF-7 modeli, hormon bağımlı meme kanseri hücrelerinin proliferasyon özelliklerinin, hücresel yanıtlarının ve farklı bileşiklere karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesinde uygun bir deneysel sistem sağlamaktadır. Bununla birlikte, bir hücre hattının belirli moleküler özelliklere sahip olması, meme kanserinin tamamını temsil ettiği anlamına gelmemektedir. Meme kanserinin farklı alt tipler içeren heterojen bir hastalık grubu olması nedeniyle, elde edilen deneysel sonuçların hücre hattının biyolojik özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Meme kanserinde tümörlerin moleküler yapıları ve klinik davranışları arasında belirgin farklılıklar bulunabilmektedir. Hormon reseptörlerinin, büyüme faktörü reseptörlerinin ve hücre içi sinyal iletiminde görev alan çeşitli moleküllerin ekspresyon düzeyleri tümörler arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Bu moleküler farklılıklar, tümör hücrelerinin proliferasyon özelliklerini ve dış uyaranlara verdikleri yanıtları etkileyebildiği gibi tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde de dikkate alınmaktadır. MCF-7 hücreleri, ER pozitif özelliklerinin yanı sıra Luminal A grubu ile ilişkilendirilen moleküler özelliklere sahip bir meme kanseri hücre hattı olarak sınıflandırılmıştır (Subik ve ark., 2010). Bu sınıflandırma, MCF-7 hücrelerinin özellikle hormon reseptörü pozitif meme kanserlerinin biyolojik özelliklerinin incelenmesinde kullanılmasını desteklemektedir. Hücre hattının reseptör profili,

araştırılan bileşiklerin hücresel proliferasyon üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde de dikkate alınması gereken özelliklerden biridir.

Meme kanseri biyolojisinin anlaşılmasında hormon reseptörlerinin yanı sıra büyüme faktörü reseptörleri tarafından düzenlenen sinyal yolları da araştırılmaktadır. Bu yollar içerisinde fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) sinyal sistemi, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve tümör hücrelerinin biyolojik davranışlarıyla ilişkili mekanizmalar açısından incelenmiştir. FGFR sinyal yolunda meydana gelen değişikliklerin meme kanserinin bazı alt tiplerinde tümör biyolojisi ve tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (André ve Cortés, 2015). Meme kanserinde görülen moleküler çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda, tümör hücrelerinin reseptör profili ve ilişkili sinyal mekanizmalarının birlikte değerlendirilmesi, hücresel yanıtların yorumlanmasına katkı sağlamaktadır. Bu nedenle deneysel çalışmalarda kullanılan hücre modelinin moleküler özelliklerinin bilinmesi, elde edilen biyolojik aktivite sonuçlarının doğru biçimde değerlendirilmesi açısından gereklidir.

Kanser tedavisinde cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi gibi farklı tedavi yaklaşımlarından yararlanılmaktadır. Tedavi seçimi tümörün özelliklerine, hastalığın evresine ve hastaya ait çeşitli klinik faktörlere göre değişebilmektedir. Özellikle sistemik tedaviler, tümör hücreleri üzerindeki etkilerinin yanında normal hücre ve dokular üzerinde de istenmeyen sonuçlara yol açabilmektedir. Meme kanserinde adjuvan sistemik tedavinin belirlenmesi sırasında tümörün biyolojik özellikleri ile hastanın tedaviden yarar sağlama olasılığı birlikte değerlendirilmektedir. Tedaviden fayda görme olasılığı düşük olan hastaların gereksiz toksisiteye maruz bırakılmaması, tedavi kararlarının temel unsurlarından biri olarak ele alınmaktadır (Hernandez-Aya ve Gonzalez-Angulo, 2013). Bu yaklaşım, meme kanserinde tümör özelliklerinin ayrıntılı biçimde değerlendirilmesinin tedavi planlaması açısından neden gerekli olduğunu göstermektedir.

Sistemik kanser tedavileri sırasında ortaya çıkabilen yan etkiler, hastaların günlük yaşamını ve tedavi sürecine uyumunu olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Kullanılan ilaçların hedef dışı hücreler üzerindeki etkileri; tedavinin dozunu, süresini ve uygulanabilirliğini sınırlayabilmektedir. Bunun yanında tümör hücrelerinin tedaviye karşı direnç geliştirmesi, kanser tedavisinde karşılaşılan diğer önemli sorunlardan biridir. Başlangıçta tedaviye duyarlı olan hücrelerin zaman içerisinde seçilerek dirençli bir hücre popülasyonunun oluşması, tedavinin etkinliğinin azalmasına ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir. Bu

nedenle antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında yüksek sitotoksik veya antiproliferatif aktivitenin yanı sıra hedef hücrelere yönelik seçiciliğin artırılması da dikkate alınmaktadır.

Kanser tedavisindeki mevcut sınırlılıklar, yeni moleküler yapıların araştırılmasını ve farklı kimyasal sınıflara ait bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesini desteklemektedir. Özellikle kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayabilen, buna karşılık normal hücreler üzerindeki istenmeyen etkileri mümkün olduğunca azaltılmış bileşiklerin geliştirilmesi, yeni antikanser ajanların araştırılmasında temel yaklaşımlardan biridir. Bu kapsamda farklı fonksiyonel gruplar ve farmakoforik yapılar içeren bileşiklerin sentezlenmesi, yapı ile biyolojik aktivite arasındaki ilişkinin incelenmesine olanak sağlamaktadır. Elde edilen yeni moleküllerin farklı kanser hücre modellerinde test edilmesi ise bileşiklerin antiproliferatif potansiyelinin belirlenmesine ve yapı-aktivite ilişkilerinin değerlendirilmesine katkıda bulunmaktadır.

Meme kanseri araştırmalarında MCF-7 gibi karakteristik moleküler özellikleri bilinen hücre hatlarının kullanılması, yeni bileşiklerin hücresel proliferasyon üzerindeki etkilerinin kontrollü deney koşullarında değerlendirilmesine olanak vermektedir. Özellikle ER pozitif meme kanseri modeli olarak MCF-7 hücrelerinin kullanılması, sentezlenen bileşiklerin bu hücrelerin canlılığı ve proliferasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılmasına uygun bir zemin oluşturmaktadır. Bu yaklaşım doğrultusunda farklı kimyasal yapılara sahip yeni antikanser adaylarının sentezlenmesi, karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi ve hücresel modeller üzerindeki biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi, meme kanserine yönelik deneysel araştırmaların temel aşamalarını oluşturmaktadır.

1.3. Meme Kanseri

MCF-7 hücre hattı, meme kanserinin hücresel ve moleküler özelliklerinin araştırılmasında uzun yıllardır kullanılan deneysel modellerden biridir. İnsan meme adenokarsinomundan köken alan bu hücre hattı, 1970 yılında 69 yaşındaki bir kadın hastanın metastatik meme karsinomuna bağlı olarak gelişen plevral efüzyonundan elde edilen hücrelerden geliştirilmiştir (Soule ve ark., 1973). MCF-7 hücrelerinin meme epiteline özgü bazı özellikleri koruması, bu hücrelerin meme kanseri araştırmalarında tercih edilmesinin temel nedenleri arasında yer almaktadır. Hücre kültürü koşullarında epitel hücrelerine benzer morfolojik özellikler göstermeleri ve belirli koşullarda karakteristik hücresel yapılar meydana getirmeleri, MCF-7 hücrelerinin tümör hücrelerinin biyolojik davranışlarının incelenmesine olanak sağlamaktadır. Soule ve ark.

(1973), MCF-7 hücrelerinde sitoplazmik östrojen reseptörünün bulunduğunu ve uygun kültür koşullarında kubbe benzeri yapıların oluşabildiğini bildirmiştir. Bu özellikler, hücre hattının meme epiteli ile ilişkili fenotipik özelliklerinin belirli ölçüde korunduğunu göstermektedir.

MCF-7 hücrelerinin karakteristik özelliklerinden biri de östrojen reseptörü (ER) ekspresyonudur. Daha sonraki araştırmalarda MCF-7 hücrelerinin ER pozitif özellik taşıdığı doğrulanmış ve bu hücre hattı hormon reseptörü pozitif meme kanserinin biyolojik özelliklerinin araştırılmasında yaygın biçimde kullanılmıştır (Levenson ve Jordan, 1997; Subik ve ark., 2010). Östrojen reseptörlerinin varlığı, hücrelerin östrojen aracılı sinyalizasyon mekanizmalarına yanıt verebilmesini mümkün kılmaktadır. Bu nedenle MCF-7 modeli, hormon bağımlı meme kanseri hücrelerinin proliferasyon özelliklerinin, hücresel yanıtlarının ve farklı bileşiklere karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesinde uygun bir deneysel sistem sağlamaktadır. Bununla birlikte, bir hücre hattının belirli moleküler özelliklere sahip olması, meme kanserinin tamamını temsil ettiği anlamına gelmemektedir. Meme kanserinin farklı alt tipler içeren heterojen bir hastalık grubu olması nedeniyle, elde edilen deneysel sonuçların hücre hattının biyolojik özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Meme kanserinde tümörlerin moleküler yapıları ve klinik davranışları arasında belirgin farklılıklar bulunabilmektedir. Hormon reseptörlerinin, büyüme faktörü reseptörlerinin ve hücre içi sinyal iletiminde görev alan çeşitli moleküllerin ekspresyon düzeyleri tümörler arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Bu moleküler farklılıklar, tümör hücrelerinin proliferasyon özelliklerini ve dış uyaranlara verdikleri yanıtları etkileyebildiği gibi tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde de dikkate alınmaktadır. MCF-7 hücreleri, ER pozitif özelliklerinin yanı sıra Luminal A grubu ile ilişkilendirilen moleküler özelliklere sahip bir meme kanseri hücre hattı olarak sınıflandırılmıştır (Subik ve ark., 2010). Bu sınıflandırma, MCF-7 hücrelerinin özellikle hormon reseptörü pozitif meme kanserlerinin biyolojik özelliklerinin incelenmesinde kullanılmasını desteklemektedir. Hücre hattının reseptör profili, araştırılan bileşiklerin hücresel proliferasyon üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde de dikkate alınması gereken özelliklerden biridir.

Meme kanseri biyolojisinin anlaşılmasında hormon reseptörlerinin yanı sıra büyüme faktörü reseptörleri tarafından düzenlenen sinyal yolları da araştırılmaktadır. Bu yollar içerisinde fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) sinyal sistemi, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve tümör hücrelerinin biyolojik davranışlarıyla ilişkili mekanizmalar açısından incelenmiştir.

FGFR sinyal yolunda meydana gelen değişikliklerin meme kanserinin bazı alt tiplerinde tümör biyolojisi ve tedavi yanıtı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (André ve Cortés, 2015). Meme kanserinde görülen moleküler çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda, tümör hücrelerinin reseptör profili ve ilişkili sinyal mekanizmalarının birlikte değerlendirilmesi, hücresel yanıtların yorumlanmasına katkı sağlamaktadır. Bu nedenle deneysel çalışmalarda kullanılan hücre modelinin moleküler özelliklerinin bilinmesi, elde edilen biyolojik aktivite sonuçlarının doğru biçimde değerlendirilmesi açısından gereklidir.

Kanser tedavisinde cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi gibi farklı tedavi yaklaşımlarından yararlanılmaktadır. Tedavi seçimi tümörün özelliklerine, hastalığın evresine ve hastaya ait çeşitli klinik faktörlere göre değişebilmektedir. Özellikle sistemik tedaviler, tümör hücreleri üzerindeki etkilerinin yanında normal hücre ve dokular üzerinde de istenmeyen sonuçlara yol açabilmektedir. Meme kanserinde adjuvan sistemik tedavinin belirlenmesi sırasında tümörün biyolojik özellikleri ile hastanın tedaviden yarar sağlama olasılığı birlikte değerlendirilmektedir. Tedaviden fayda görme olasılığı düşük olan hastaların gereksiz toksisiteye maruz bırakılmaması, tedavi kararlarının temel unsurlarından biri olarak ele alınmaktadır (Hernandez-Aya ve Gonzalez-Angulo, 2013). Bu yaklaşım, meme kanserinde tümör özelliklerinin ayrıntılı biçimde değerlendirilmesinin tedavi planlaması açısından neden gerekli olduğunu göstermektedir.

Sistemik kanser tedavileri sırasında ortaya çıkabilen yan etkiler, hastaların günlük yaşamını ve tedavi sürecine uyumunu olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Kullanılan ilaçların hedef dışı hücreler üzerindeki etkileri; tedavinin dozunu, süresini ve uygulanabilirliğini sınırlayabilmektedir. Bunun yanında tümör hücrelerinin tedaviye karşı direnç geliştirmesi, kanser tedavisinde karşılaşılan diğer önemli sorunlardan biridir. Başlangıçta tedaviye duyarlı olan hücrelerin zaman içerisinde seçilerek dirençli bir hücre popölasyonunun oluşması, tedavinin etkinliğinin azalmasına ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir. Bu nedenle antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında yüksek sitotoksik veya antiproliferatif aktivitenin yanı sıra hedef hücrelere yönelik seçiciliğin artırılması da dikkate alınmaktadır.

Kanser tedavisindeki mevcut sınırlılıklar, yeni moleküler yapıların araştırılmasını ve farklı kimyasal sınıflara ait bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesini desteklemektedir. Özellikle kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayabilen, buna karşılık normal hücreler üzerindeki istenmeyen etkileri mümkün olduğunca azaltılmış bileşiklerin geliştirilmesi, yeni

antikanser ajanların araştırılmasında temel yaklaşımlardan biridir. Bu kapsamda farklı fonksiyonel gruplar ve farmakoforik yapılar içeren bileşiklerin sentezlenmesi, yapı ile biyolojik aktivite arasındaki ilişkinin incelenmesine olanak sağlamaktadır. Elde edilen yeni moleküllerin farklı kanser hücre modellerinde test edilmesi ise bileşiklerin antiproliferatif potansiyelinin belirlenmesine ve yapı-aktivite ilişkilerinin değerlendirilmesine katkıda bulunmaktadır.

Meme kanseri araştırmalarında MCF-7 gibi karakteristik moleküler özellikleri bilinen hücre hatlarının kullanılması, yeni bileşiklerin hücresel proliferasyon üzerindeki etkilerinin kontrollü deney koşullarında değerlendirilmesine olanak vermektedir. Özellikle ER pozitif meme kanseri modeli olarak MCF-7 hücrelerinin kullanılması, sentezlenen bileşiklerin bu hücrelerin canlılığı ve proliferasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılmasına uygun bir zemin oluşturmaktadır. Bu yaklaşım doğrultusunda farklı kimyasal yapılara sahip yeni antikanser adaylarının sentezlenmesi, karakterizasyonlarının gerçekleştirilmesi ve hücresel modeller üzerindeki biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi, meme kanserine yönelik deneysel araştırmaların temel aşamalarını oluşturmaktadır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kanser, genetik ve moleküler düzeyde önemli farklılıklar gösteren heterojen bir hastalık grubunu ifade etmektedir. Tümör dokusunda gözlenen genetik değişimler ve bunların protein ifadesine yansımaları, hastalığın biyolojik davranışının ve tedaviye karşı gösterdiği yanıtın kişiden kişiye değişmesine yol açabilmektedir. Tedavi planlaması yapılırken hastalığın tipi, evresi ve hastaya özgü klinik özellikler göz önünde bulundurularak cerrahi girişim, radyoterapi ve sistemik tedavi seçeneklerinden faydalanılmaktadır (Verma, 2012).

Hastalığın tanısı ve yayılım derecesinin belirlenmesinde biyopsi, endoskopik incelemeler ve ultrasonografi gibi tanı yöntemlerine başvurulmakta, bazı durumlarda cerrahi eksplorasyona ihtiyaç duyulabilmektedir. Cerrahi tedavinin öncelikli amacı, tümör kütesinin olabildiğince eksiksiz şekilde uzaklaştırılmasıdır. Ancak operasyon esnasında gözle görülemeyen mikrometastazlar ya da vücudun farklı bölgelerine yayılmış tümör hücreleri kalabilmektedir. Bu hücrelerin operasyon sonrasında yeniden çoğalmaya başlaması, hastalığın nüks etmesine ya da ilerlemesine sebep olabilir. Bu durum, cerrahi tedavinin hastanın durumuna göre radyoterapi veya sistemik tedavi yöntemleriyle desteklenmesini gerekli kılmaktadır (Sudhakar, 2009; Pucci ve ark., 2019; Schirmacher, 2019).

Radyoterapi, tümör dokusundaki hücrelerin iyonlaştırıcı ışınlarla maruz bırakılması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla başlıca X-ışınları, gama ışınları ve yüklü parçacıklardan yararlanılmaktadır (Baskar ve ark., 2012). Radyasyonun hücreler üzerindeki öldürücü etkisinin temelinde büyük oranda DNA moleküllerinde meydana gelen hasar yatmaktadır. Meydana gelen hasarın hücrenin kendini onarma kapasitesinin üzerine çıkması, özellikle aktif bölünen hücrelerde üreme yeteneğinin ortadan kalkmasına ve hücre ölümüne yol açabilmektedir. Bunun dışında, radyasyona bağlı olarak açığa çıkan reaktif oksijen türleri (ROS) hücresel yapılarda oksidatif hasar oluşumuna zemin hazırlayabilmektedir. Tümör hücrelerinde DNA hasarını artırıcı yönde işleyen bu süreç, sağlıklı dokularda görülebilecek benzer oksidatif etkilerle birlikte değerlendirilmektedir (Calvaruso ve ark., 2019; Kim ve ark., 2019).

Kanser tedavi yaklaşımlarından bir diğeri immünoterapidir. Bu yöntemde temel hedef, organizmanın bağışıklık sisteminin tümör hücrelerine yönelik yanıtını kuvvetlendirmek veya bu yanıtı düzenleyici yönde etkilemektir. Uygulanan tedavi stratejisine göre interferon,

interlökin, çeşitli sitokinler, endojen anjiyoinhibitörler ve antijen gibi biyolojik ajanlar kullanılabilmektedir (Sudhakar, 2009).

Kemoterapi ise sistemik yoldan uygulanan antikanser ilaçlar aracılığıyla kanser hücrelerinin çoğalmasının engellenmesini veya bu hücrelerde ölümün tetiklenmesini hedefleyen bir tedavi biçimidir. Tümörün özelliklerine ve belirlenen tedavi protokolüne göre kemoterapi, cerrahi öncesinde ya da sonrasında klinik uygulamaya alınabilmektedir (Shewach ve Kuchta, 2009). Kemoterapötik ajanlar farklı etki mekanizmalarına sahip olsa da, genel olarak hızlı bölünen hücrelerin çoğalmasının durdurulması ve hücre ölümünün uyarılması bu ilaçların ortak özelliği olarak öne çıkmaktadır. Ne var ki bu ilaçların etki gösterdiği biyolojik yolların sağlıklı dokulardaki hızlı çoğalan hücrelerde de aktif olması, tedaviye bağlı yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca tümör hücrelerinin tedavi sürecinde ilaçlara direnç geliştirmesi, kemoterapinin klinik başarısını sınırlayan önemli sorunlardan biridir (Yadav ve ark., 2017; Akkol ve ark., 2020).

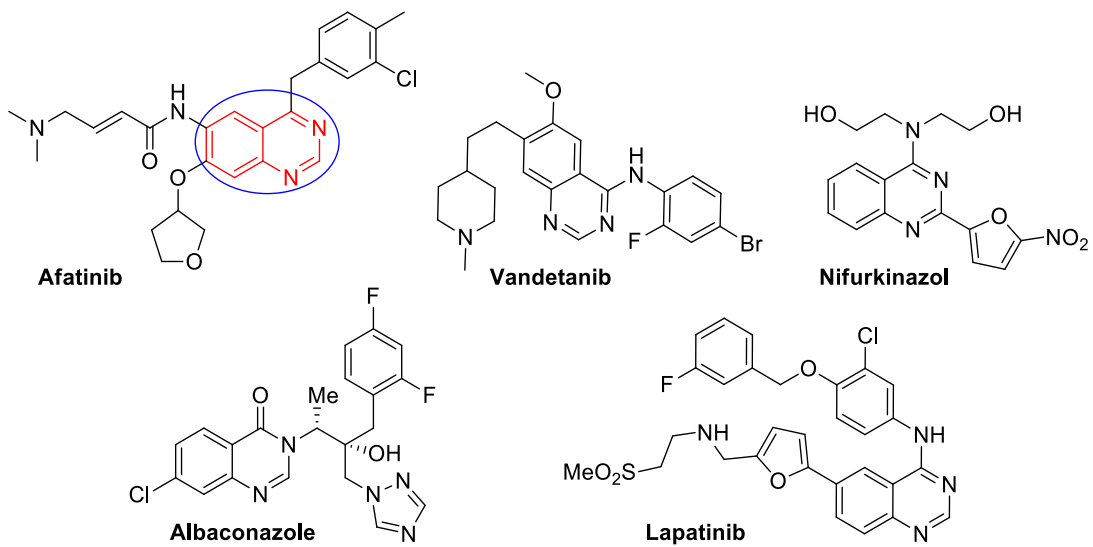
Kemoterapide karşılaşılan toksisite ve direnç sorunları, kanser hücrelerini daha spesifik biçimde hedef alabilen yeni moleküllerin geliştirilmesine yönelik araştırmaları teşvik etmektedir. İdeal bir antikanser aday molekülde aranan özellikler arasında tümör hücrelerine karşı yüksek etkinlik göstermesi ve sağlıklı hücreler üzerindeki olumsuz etkilerinin en aza indirilmesi bulunmaktadır. Bu nedenle yeni bileşiklerin geliştirilmesinde etkinlik ve seçicilik arasındaki dengenin sağlanması araştırmacıların üzerinde durduğu temel konulardan biri haline gelmiştir (Moghaddam ve ark., 2012; Hong ve ark., 2018).

Yeni antikanser ajanların keşfinde doğal kaynaklı biyoaktif bileşikler de önemli bir yer tutmaktadır. Bitkisel kaynaklardan, bakterilerden, mantarlardan ve deniz canlılarından elde edilen çok sayıda doğal molekülün antikanser ilaç geliştirme çalışmalarında kullanıldığı rapor edilmiştir (Mondal ve ark., 2012; Cragg ve Pezzuto, 2016). Bu tür sekonder metabolitlerin farklı biyolojik hedeflerle etkileşim kurabilme özelliği, söz konusu yapıların yeni ilaç tasarımı çalışmalarında başlangıç noktası olarak kullanılmasına imkân tanımaktadır. Farmasötik kimya alanında bu doğal yapılar üzerinde gerçekleştirilen kimyasal modifikasyonlar aracılığıyla bileşiklerin biyolojik ve farmakolojik profillerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Yapı-aktivite ilişkisi (SAR) çalışmaları, hangi yapısal unsurların biyolojik etkinliğe katkı sağladığının belirlenmesinde yol gösterici olmaktadır. Yarı sentetik veya tam sentetik yollarla moleküler yapıda yapılan değişiklikler, hem biyolojik aktivitenin artırılmasına hem de

biyoyararlanım ve toksisite gibi farmakokinetik özelliklerin iyileştirilmesine katkı sağlayabilmektedir (Moghaddam ve ark., 2012; Hong ve ark., 2018).

Antikanser potansiyele sahip yeni moleküllerin geliştirilmesinde heterosiklik yapılar ve bunların çeşitli fonksiyonel gruplarla oluşturulan türevleri de araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Bu yapılarda kiralite özelliğinin bulunması, molekülün biyolojik sistemlerle kurduğu etkileşimi etkileyebilecek önemli bir yapısal parametre olarak kabul edilmektedir. Bir molekülün stereoizomerleri, aynı moleküler formüle ve bağ dizilimine sahip olsalar dahi, üç boyutlu uzaysal yapılarındaki farklılık nedeniyle biyolojik hedeflerle farklı derecelerde etkileşime girebilmektedir. Bu nedenle kiral yapıli bileşiklerde stereokimyanın biyolojik aktiviteye olan etkisinin incelenmesi, yeni ilaç adaylarının değerlendirilmesinde kritik bir aşama olarak görülmektedir.

Bu bağlamda, kiral merkez taşıyan heterosiklik bileşiklerin kontrollü sentez yöntemleriyle elde edilmesi ve farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilmesi, yeni antikanser aday moleküllerin araştırılmasında kullanılan stratejilerden biridir. Asimetrik sentez teknikleri, hedeflenen molekülün belirli bir stereokimyasal konfigürasyonda üretilmesini sağlayarak stereoizomerlerin biyolojik özelliklerinin bağımsız olarak incelenebilmesine olanak tanımaktadır. Elde edilen kiral yapıların in vitro hücre kültürü modelleri üzerinde test edilmesi, moleküler yapı ile antiproliferatif etkinlik arasındaki ilişkinin ortaya konması bakımından önemli bir basamak oluşturmaktadır.



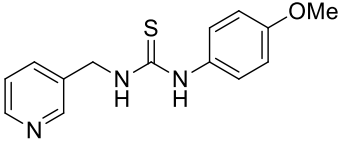
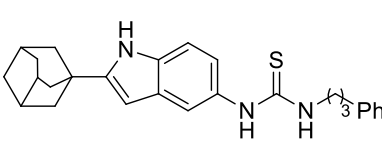
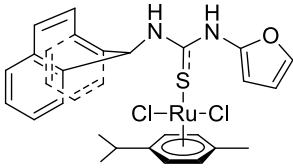
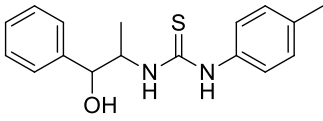
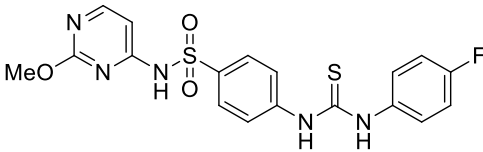
Şekil 2.1. Anti-kanser, antifungal ve antibakteriyel aktivite gösteren kinazolin(on) türevleri

Biyolojik aktivite taşıyan yeni moleküllerin tasarlanması ile mevcut bileşiklerin etkinlik ve toksisite yönünden geliştirilmesi, ilaç araştırmalarının odaklandığı başlıca alanlar arasında yer almaktadır. Moleküler tasarım stratejilerinden biri, farklı biyolojik etkilere sahip farmakofor gruplarının tek bir molekül iskeleti içerisinde birleştirilmesi esasına dayanan hibrit farmakofor yaklaşımıdır. Bu doğrultuda, farklı farmakolojik özellikler sergileyebilen heterosiklik sistemler arasında yer alan kinazolin türevleri de literatürde geniş şekilde incelenmiştir. Şekil 2.1'de bazı kinazolin türevlerinin yapıları ve biyolojik kullanım alanları verilmiştir. Bu bileşiklerden Afatinib, Lapatinib, Vandetanib ve Anastrozol antikanser ajanlar arasında sayılırken, Albacnazole antifungal, Nifurkinazol ise antibakteriyel amaçla kullanılan kinazolin türevleri arasında yer almaktadır (Bilyi ve ark., 2015).

Tiyoüre grubunun farklı biyolojik etkinliklere sahip bileşiklerin yapısında bulunması, bu fonksiyonel grubun farmasötik kimya araştırmalarında dikkat çekmesine neden olmuştur. Literatür incelendiğinde tiyoüre türevlerinin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antitüberküloz etkiler gösterebildiği, bazı türevlerin ise antikanser aktivite açısından da değerlendirildiği görülmektedir (Abbas ve ark., 2013; Tatar ve ark., 2016; Chen ve ark., 2009). Tiyoüre grubunun peptit yapılı moleküllere eklenmesi, bileşiğin yapısal özelliklerinin yanı sıra biyolojik hedeflerle kurduğu etkileşim biçimini de değiştirebilmektedir. Özellikle enzim-substrat etkileşiminin konusu söz olduğu sistemlerde, tiyoüre grubunun sunduğu ek bağlanma noktaları molekülün hedef bölgeyle etkileşiminde belirleyici olabilmektedir. Geçiş durumu konformasyonunda meydana gelebilecek bu tür etkileşimler, tiyoüre içeren bileşiklerin biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulacak unsurlar arasında yer almaktadır (Huang ve ark., 2016; Achilefu ve ark., 2002).

Tiyoüre grubunun elektronik yapısı ve hidrojen bağı oluşturma kapasitesi de biyolojik hedeflerle etkileşim açısından önemli bir parametredir. Tiyoüre yapısındaki kükürt atomunun hidrojen bağı kabul etme eğilimi, ürede yer alan karbonil oksijenine kıyasla daha zayıf olsa da, grubun hidrojen bağı verici ve alıcı özellikleri moleküler tanıma mekanizmalarına katkı sunabilmektedir. Bununla birlikte tiyoüre protonlarının nispeten daha asidik karakter taşıması, bu grubun farklı moleküler ortamlarda çok yönlü hidrojen bağı etkileşimleri kurmasına olanak sağlamaktadır. Bu özellikler, tiyoüre grubu içeren bileşiklerin biyolojik hedeflerle etkileşim şeklinin belirlenmesinde yapısal açıdan önemli görülmektedir (Doyle ve Jacobsen, 2007).

Tablo 2.1. Bazı tiyoürelerin çeşitli anti-kanser aktiviteleri için IC₅₀ (μM) değerleri (IC₅₀, hücre proliferasyonunda %50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonu).

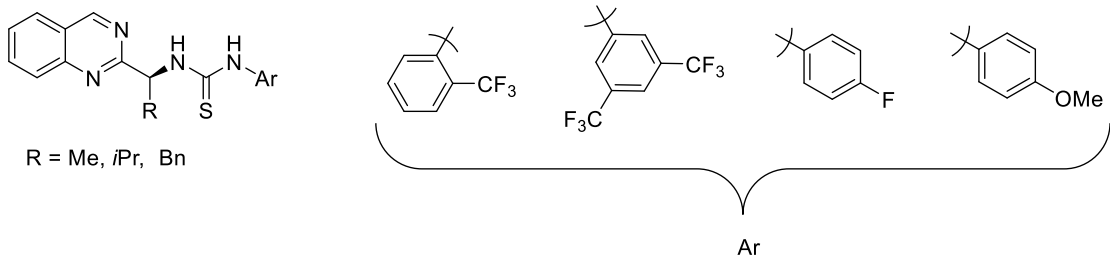
		
1a (Mushtaque 2016) MCF-7 IC ₅₀ = 160.97 μM	1b (Hu 2017) MCF-7 IC ₅₀ = 5.16 μM HepG2 IC ₅₀ = 1.42 μM	1c (Rohini 2018) MCF-7 IC ₅₀ = 18.9 μM HeLa IC ₅₀ = 27.2 μM
		
1d (Alsaid 2016) MCF-7 IC ₅₀ = 16.6 μM HepG2 IC ₅₀ = 12.0 μM	1e (Ghorab 2017) MCF-7 IC ₅₀ = 41.9 μM HepG2 IC ₅₀ = 18.8 μM	

Bu çerçevede yürütülen tez çalışmasında, kinazolin çekirdeği taşıyan kiral tiyoüre türevlerinin tasarımı gerçekleştirilmiş ve bu bileşikler asimetrik sentez yoluyla elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları çeşitli spektroskopik ve analitik yöntemler kullanılarak aydınlatılmıştır. Bileşiklerin biyolojik etkinlikleri, MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı üzerinde *in vitro* koşullarda antiproliferatif aktivite açısından incelenmiştir. Hücresel etkinliğin belirlenmesinde MTT testi uygulanmış olup, elde edilen bulgular sentezlenen kiral kinazolin türevi tiyoüre bileşiklerinin potansiyel antikanser adaylar olarak değerlendirilmesine temel oluşturacak veriler sunmaktadır.

2.1. Amaç

Tiyoüre türevlerinin çeşitli biyolojik aktiviteler gösterebildiği bilinmesine rağmen, özellikle kiral tiyoürelerin biyolojik özelliklerini inceleyen çalışmaların sayısı sınırlıdır. Bu nedenle farklı yapısal özelliklere sahip yeni kiral tiyoüre türevlerinin hazırlanması ve bu bileşiklerin antikanser aktivitelerinin değerlendirilmesi, yeni biyoaktif yapıların araştırılması açısından ele alınabilecek bir konudur. Kinazolin ve tiyoüre gruplarını aynı moleküler yapı içerisinde taşıyan kiral bileşiklere ilişkin çalışmaların da sınırlı olması, bu yapıların sentezlenmesine ve biyolojik

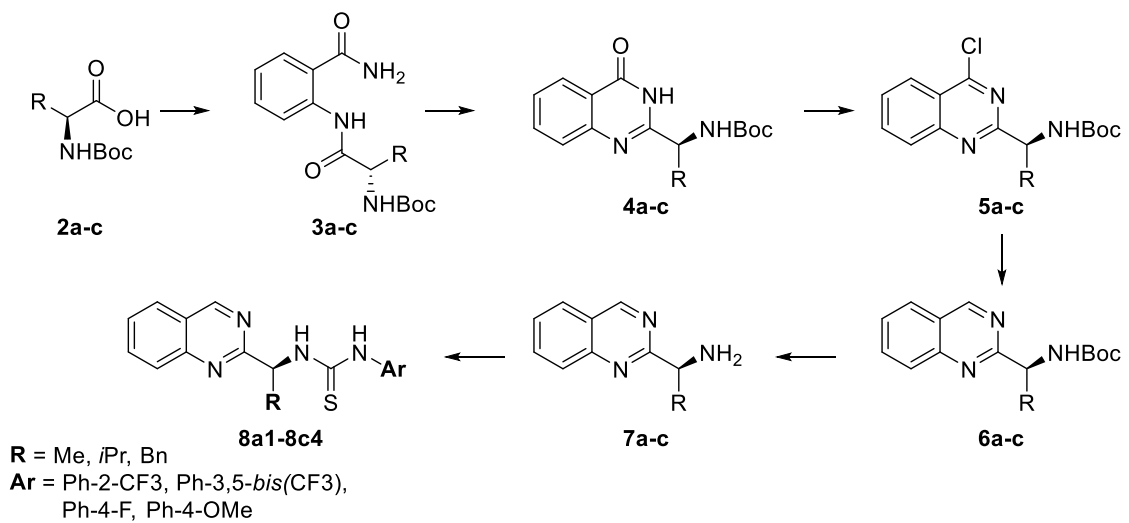
aktivitelerinin incelenmesine yönelik araştırmaları gerekli kılmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, doğal amino asitlerden hareketle kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin sentezlenmesidir. Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapılarının aydınlatılması ve karakterizasyonlarının NMR ve IR spektroskopileri kullanılarak gerçekleştirilmesi de çalışmanın amaçları arasında yer almaktadır. Elde edilen kiral tiyoüre türevlerinin insan meme kanseri hücre hattı MCF-7 ve karaciğer hücre hattı HUH-7 üzerindeki antiproliferatif aktiviteleri MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tez kapsamında sentezlenen kiral tiyoüre bileşiklerinin genel yapıları şekil 2.2'de gösterilmiştir. Çalışmanın bir diğer amacı, kinazolin ve tiyoüre yapılarının aynı molekül içerisinde bulunmasıyla birlikte, moleküler yapıdaki farklı sübstitüentlerin MCF-7 hücreleri üzerindeki antikanser aktiviteye etkisini incelemektir. Bu kapsamda, tiyoüre yapısındaki R grubunu oluşturan sübstitüentler ile tiyoüre fonksiyonel grubuna bağlı aromatik halkada bulunan sübstitüentlerin hücresel aktivite üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böylece moleküler yapıdaki değişiklikler ile gözlenen biyolojik aktivite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine yönelik verilerin elde edilmesi hedeflenmiştir.



şekil 2.2. Çalışma kapsamında kullanılan kiral tiyoürelerin genel şeması

3. GEREÇ VE YÖNTEM

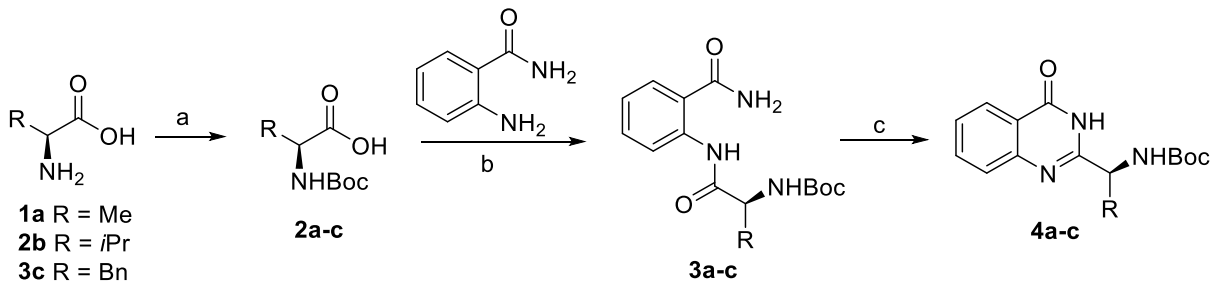
Çalışmada, doğal amino asitlerden hareketle kinazolin temelli kiral tiyoüre türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiş ve elde edilen bileşiklerin kimyasal yapıları çeşitli spektroskopik yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Sentez aşamasında başlangıç maddeleri olarak L-alanin, L-valin ve L-fenilalanin gibi doğal amino asitlerden yararlanılmıştır. Bu amino asitlerden hareketle öncelikle (S)-kinazolinon amin türevleri (**4a-c**) hazırlanmıştır. Elde edilen (S)-kinazolinon aminlerin (**4a-c**) yapılarında sırasıyla klorlama, indirgeme ve Boc grubunun uzaklaştırılması işlemleri uygulanarak (S)-kinazolin amin türevleri (**7a-c**) elde edilmiştir. Hazırlanan (S)-kinazolin amin türevleri (**7a-c**), farklı aril izotiyosiyanatlarla reaksiyona sokularak hedeflenen kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin (**8a1-8c4**) sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda 2-(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, 3,5-bis(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, 4-florofenil izotiyosiyanat ve 4-metoksifenil izotiyosiyanat kullanılmış. Bu sentezler sonucunda toplam 8 yeni kiral tiyoüre bileşiği elde edilmiştir. Sentez yolunda kullanılan başlangıç maddeleri, ara ürünler ve hedef bileşiklerin yapıları ilgili şekillerde gösterilmiştir. Sentezlenen kiral tiyoüre bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri de deneysel olarak incelenmiştir. Bileşiklerin insan meme kanseri hücre hatları MCF-7 ve HUH-7 üzerindeki antiproliferatif etkileri MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda daha yüksek antiproliferatif aktivite gösteren kiral tiyoüre türevleri belirlenmiş ve seçilen bileşiklerin hücrelerde meydana getirdiği apoptotik ve nekrotik etkiler ayrıca araştırılmıştır.



Şekil 3.1. Kiral tiyoürelerin genel olarak sentez basamakları

3.1. Amino Asitlerden (1a-c) Amit 3 ve Kinazolinon 4a-c Bileşiklerinin Elde Edilmesi

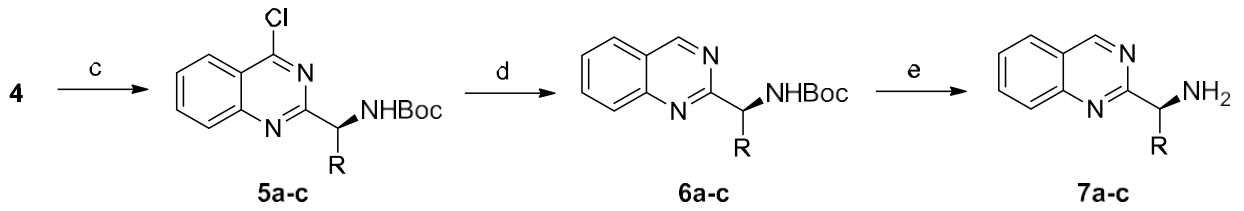
Kinazolinon türevleri (**4a-c**) için başlangıç maddesi olarak L-alanin (**1a**), L-valin (**1b**) ve L-fenilalanin (**1c**) kullanılmıştır. Söz konusu amino asitlerin kolay temin edilebilir ve ekonomik başlangıç maddeleri olması nedeniyle sentez sürecinde tercih edilmiştir. L-alanin (**1a**), L-valin (**1b**) ve L-fenilalanin (**1c**), THF içerisinde Na_2CO_3 ve $(\text{Boc})_2\text{O}$ ile reaksiyona sokularak ilgili (S)-NHBoc-amino asit türevleri (**2a-c**) hazırlanmıştır. Bu aşamada **2a**, **2b** ve **2c** bileşikleri sırasıyla %90, %95 ve %96 verimle elde edilmiştir. Bir sonraki sentez basamağında, elde edilen **2a-c** bileşikleri THF içerisinde etil kloroformat (ClCO_2Et) varlığında 2-aminobenzamid (antranil amit) ile kondenzasyon reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Literatürde bildirilen yöntemden yararlanılarak gerçekleştirilen bu işlem sonucunda (Chen vd., 2008), ilgili amit türevleri (**3a-c**) sırasıyla %85, %75 ve %75 verimlerle sentezlenmiştir. Kinazolinon halkasının oluşturulması amacıyla **3a-c** bileşikleri etanol içerisinde 10 M NaOH içeren kuvvetli bazik ortamda halkalaşma reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Literatürde belirtilen yöntemle gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda (Fekner vd., 2006) hedeflenen kinazolinon türevleri (**4a-c**) elde edilmiştir. **4a**, **4b** ve **4c** bileşikleri sırasıyla %93, %94 ve %95 verimle elde edilmiş olup, kolon kromatografisi uygulanmaksızın saf beyaz katılar şeklinde izole edilmiştir. Bu sentez aşamalarında gerçekleştirilen kimyasal dönüşümler Şekil 3.1.1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3.1.1. Kinazolinonlar 4'ün sentezi

Reaksiyon şartları: (a) Na_2CO_3 (1.2 ekiv.), $(\text{Boc})_2\text{O}$ (1.2 ekiv.), (b) ClCO_2Et (1 ekiv.), NEt_3 (1 ekiv.), 2-aminobenzamid **9** (1.5 ekiv.), oda sıcaklığı (os), THF; (c) 10 M NaOH (4 ekiv.), os, EtOH.

3.2. Aminokinazolin Bileşikleri 7a-c'nin Sentezleri



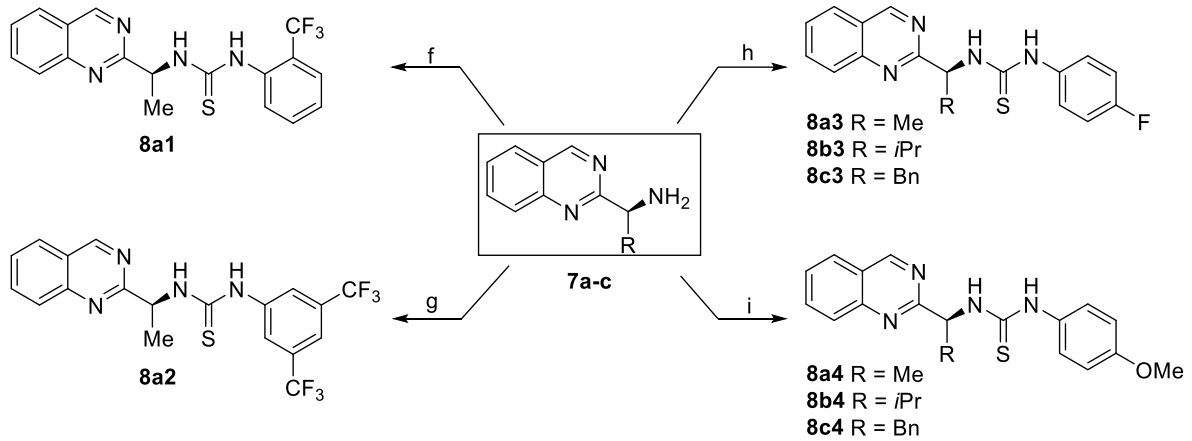
Şekil 3.2.1. Kinazolin aminler 7a-c'nin sentezi

Reaksiyon şartları: (c) PhNEt₂ (2 ekiv.), POCl₃ (3 ekiv.), 0 °C; (d) (1.7 ekiv.), Pd(PPh₃)₄ (%3 mol), NaBH₄ (1.7 ekiv), THF, 60 °C; (e), TFA (10 ekiv.), DCM, os.

Kinazolinon türevlerinden (**4a-c**) klorokinazolin bileşiklerinin (**5a-c**) hazırlanması amacıyla, literatürde Cakici ve arkadaşları tarafından bildirilen sentez yöntemi esas alınmıştır (2011). Bu işlemde **4a-c** bileşikleri, *N,N*-dietilanilin (PhNEt₂) ve POCl₃ içeren benzen ortamında 80 °C'de reaksiyona tabi tutulmuştur. Reaksiyonların tamamlanmasıyla **5a-c** kodlu klorokinazolin türevleri elde edilmiştir ve her üç bileşik için %95 verim sağlanmıştır. Elde edilen klorokinazolinlerin (**5a-c**) bekletilmesi sırasında açık hava koşullarında stabilitelerinin düşük olduğu gözlenmiştir. Bileşiklerin zaman içerisinde hidrolize uğrayarak başlangıç maddeleri olan kinazolinonlara (**4a-c**) dönüşebilmeleri nedeniyle, sentez sonrasında uzun süre bekletilmeden bir sonraki reaksiyon aşamasında kullanılmaları tercih edilmiştir. Klorokinazolinlerden (**5a-c**) kinazolin türevlerinin (**6a-c**) hazırlanmasında Chelucci (2010) tarafından klorlanmış piridin ve kinolinlerin indirgenmesi için bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Bu yöntemin çalışılan kinazolin türevlerine uyarlanmasıyla **5a-c** bileşikleri; TEMED, Pd(PPh₃)₄ ve NaBH₄ varlığında THF içerisinde 60 °C'de reaksiyona alınmıştır. Uygulanan reaksiyon sonucunda **6a**, **6b** ve **6c** bileşikleri sırasıyla %75, %70 ve %90 verimlerle elde edilmiştir. Sentez dizisinin devamında, bileşiklerinde bulunan Boc koruyucu grubunun molekülden uzaklaştırıldı. Bu amaçla **6a-c** bileşikleri TFA ile DCM içerisinde ve oda sıcaklığında muamele edilmiştir. Boc grubunun uzaklaştırılması sonucunda aminokinazolin türevleri (**7a-c**) elde edilmiştir ve bileşikler sırasıyla %75, %78 ve %81 verimlerle izole edilmişlerdir. Böylece sentez dizisi, kinazolinon türevlerinden (**4a-c**) klorokinazolinlere (**5a-c**), ardından kinazolin türevlerine (**6a-c**) ve son olarak aminokinazolinlere (**7a-c**) ulaşacak şekilde tamamlanmıştır.

3.3. Aminokinazolinlerin Arilizotiyosiyanatlar İle Etkileştirilmesi ve Hedef Kiral Tiyöüre Bileşiklerinin Sentezlenmesi

Kiral amino kinazolin türevlerinden (**7a-c**) hedef tiyöüre bileşiklerinin hazırlanmasında aril izotiyosiyanatlar kullanılmıştır. Bu amaçla **7a-c** kodlu aminokinazolinlerin her biri, farklı elektronik özelliklere sahip dört aril izotiyosiyanat türevi ile ayrı ayrı reaksiyona alınmıştır. Reaksiyonlarda 2-(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, 3,5-bis(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, 4-florofenil izotiyosiyanat ve 4-metoksifenil izotiyosiyanat kullanılmıştır. Aminokinazolinlerin ilgili izotiyosiyanatlarla asetonitril ortamında gerçekleştirilmesi sonucunda kinazolin temelli kiral tiyöüre türevleri (**8a1-8c4**) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler toplam 8 yeni kiral tiyöüre türevinden oluşmaktadır. Elde edilen ürünlere ait yapılar Şekil 3.3.1'de gösterilmiştir. Her bir bileşiğe ilişkin izole edilen verim değerleri ise Bulgular bölümünde verilmiştir.



Şekil 3.3.1. Kiral tiyöüreler **8**'in sentezi.

Reaktifler ve reaksiyon şartları: (f) 2-(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, os, çözücü; (g) 3,5-(triflorometil)fenil izotiyosiyanat, os, çözücü; (h) 4-florofenil izotiyosiyanat, os, çözücü; (i) 4-metoksifenil izotiyosiyanat, os, çözücü.

3.4. Sentezlenen Tiyöürelerin (**8a1-8c4**) Karakterizasyonlarının Yapılması

Sentezlenen kiral tiyöüre türevlerinin kimyasal yapılarının doğrulanması amacıyla ^1H NMR, ^{13}C NMR ve IR spektroskopik analizlerinden yararlanılmıştır. Bileşiklerin fiziksel ve kiral özelliklerinin belirlenmesi kapsamında erime noktaları ölçülmüş, optik saflıkları HPLC analizleriyle incelenmiş ve spesifik optik çevirme açıları polarimetre kullanılarak tayin

edilmiştir. **8a1** bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, molekül yapısında bulunan gruplarla ilişkilendirilebilen karakteristik proton sinyalleri belirlenmiştir. 1.2 ppm'de gözlenen dublet, kiral merkeze bağlı metil grubuna ait protonlarla ilişkilendirilmiştir. Kiral merkezde bulunan protonun sinyali 5,78 ppm'de geniş singlet olarak gözlenmiştir. Kinazolin halkasının 4-pozisyonundaki protona ait sinyal ise 9.35 ppm'de singlet şeklinde ortaya çıkmıştır. Aromatik bölgedeki sinyallerin integrasyon toplamının 8 protona karşılık gelmesi, elde edilen spektrumun önerilen **8a1** yapısıyla uyumlu olduğunu desteklemiştir. ^{13}C NMR spektrumunda **8a1** yapısında bulunan alifatik ve aromatik karbonlara karşılık gelen sinyaller belirlenmiştir. 27.1 ve 56.8 ppm'deki rezonanslar alifatik karbonlara ait sinyaller olarak değerlendirilirken, 180.1 ppm'de gözlenen sinyal tiyoüre grubundaki $\text{C}=\text{S}$ karbonuna atanmıştır. Kinazolin halkasının 4. konumundaki karbon ile izotiyosiyanat bileşeninden kaynaklanan aromatik karbon sinyalleri de spektrumda gözlenmiştir. Ayrıca 127.5 ppm'de CF_3 grubuna bağlı karbonun rezonans vermesi, triflorometil substitüentinin moleküler yapıda bulunduğunu desteklemiştir. Elde edilen ^1H ve ^{13}C NMR verileri birlikte değerlendirildiğinde, **8a1** için önerilen yapıyla uyumlu bir spektroskopik profil elde edilmiştir. **8a4** bileşiğinin spektral verileri incelendiğinde, 4-metoksifenil grubunun varlığına işaret eden sinyal mevcuttur. ^1H NMR spektrumunda 3.87 ppm'de gözlenen metoksi protonlarına ait sinyalin yanı sıra, ^{13}C NMR spektrumunda 55.8 ppm'de aynı gruba karşılık gelen karbon rezonansı tespit bulunmaktadır. Bu sinyallerin gözlenmesi, **8a4** bileşiğinin yapısında metoksi substitüentinin bulunduğunu desteklemekte ve kullanılan 4-metoksifenil izotiyosiyanat bileşeninin hedef ürün yapısına dahil olduğunu doğrulamaktadır. Diğer taraftan, hedef kiral tiyoüre bileşiklerinin (**8**) tümü için (8 adet) alınan yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) sonuçları önerilen tiyoüre yapıları ile tamamen uyumludur (Ekler).

3.5. Hücre Proliferasyon Testi (MTT Testi)

Sentezlenen kinazolin temelli kiral tiyoüre türevlerinin (8a1-8c4) hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. MTT analizi, canlı hücrelerin metabolik aktivitesinin kolorimetrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. Metabolik olarak aktif hücrelerde bulunan enzimlerin MTT'yi indirgemesi sonucunda hücre içerisinde mor renkli ve suda çözünmeyen formazan kristalleri oluşmaktadır. Oluşan formazan miktarı hücrelerin metabolik aktivitesiyle ilişkili olduğundan, meydana gelen renk yoğunluğunun ölçülmesiyle hücre canlılığı ve proliferasyonundaki değişimler değerlendirilebilmektedir. Deney başlangıcında kültürdeki

hücrelerin %70-80 konfluens düzeyine ulaşması beklendi. Hücreler kültür ortamından uzaklaştırılarak hemositometre yardımıyla sayıldı ve 96 kuyucuklu plaklara, her kuyucukta 200 µL kültür ortamı içerisinde 10.000 hücre bulunacak şekilde ekildi. Hücrelerin plak yüzeyine tutunmasını sağlamak amacıyla ekim yapılan plaklar 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂ içeren inkübatörde bir gece bekletildi. İnkübasyon sonrasında kültür ortamı uzaklaştırıldı ve kuyucuklar DPBS tamponu ile yıkandı. Sentezlenen kiral tiyoüre bileşikler komple besiyeri içerisinde 3, 6, 12, 25, 50 ve 100 µM konsantrasyonlarında hazırlandı. Her konsantrasyon için üç tekrarlı kuyucuk kullanıldı ve hazırlanan bileşik çözeltilerinden kuyucuklara 100 µL ilave edildi. Kontrol grubuna 100 µL komple besiyeri, negatif kontrol grubuna ise %0,5 DMSO içeren besiyerinden 100 µL uygulandı. Pozitif kontrol olarak karboplatin ve dosetaksel kullanıldı. Bileşik uygulamasından sonra hücreler 37 °C ve %5 CO₂ koşullarında 24 ve 48 saat süreyle inkübe edildi. Belirlenen uygulama sürelerinin tamamlanmasının ardından kuyucuklardaki ortam uzaklaştırıldı ve hücreler 100 µL DPBS ile yıkandı. Daha sonra MTT çözeltilisi kuyucuklara uygulanarak hücrelerin MTT ile inkübasyonu gerçekleştirildi. İnkübasyon sonunda canlı hücrelerin metabolik aktivitesi sonucunda meydana gelen mor renkli formazan kristalleri DMSO içerisinde çözündürüldü. Elde edilen çözeltilerin absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri üzerinden bileşiklerin hücre proliferasyonu üzerindeki inhibisyon etkileri belirlendi. Her bir kiral tiyoüre türevi için hücre proliferasyonunu %50 oranında inhibe eden konsantrasyon (IC₅₀) değerleri GraphPad Prism Software (GraphPad Software, San Diego, CA) programı kullanılarak hesaplandı. Elde edilen IC₅₀ değerleri, sonraki deneylerde uygulanacak bileşik konsantrasyonlarının belirlenmesinde referans olarak kullanıldı. Hücre proliferasyonundaki inhibisyon yüzdesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \left[1 - \frac{\text{Abs}_{(\text{numune})} - \text{Abs}_{(\text{hücresiz ortam})}}{\text{Abs}_{(\text{kontrol})} - \text{Abs}_{(\text{hücresiz ortam})}} \right] \times 100$$

3.6. Flow Sitometri Analizleri

Hücre Ölümünün değerlendirilmesi MCF-7 hücrelerinde meydana gelen hücre ölümünün karakterizasyonu için Annexin V-FITC/Propidium Iodide (PI) çift boyama yöntemi kullanılmıştır. Analizlerde Muse® Annexin V & Dead Cell Kit (MCH100105) üretici protokolü

doğrultusunda uygulanmıştır. Yöntemin temelinde, apoptotik hücrelerde hücre membranının iç yüzeyinde yer alan fosfatidilserinin (PS) membranın dış yüzeyine taşınması esas alınmaktadır. Dış membran yüzeyinde bulunan PS, FITC ile işaretlenmiş Annexin V tarafından bağlanma bölgesi olarak tanınmaktadır. Böylece Annexin V sinyali, apoptotik hücrelerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Apoptotik ve nekrotik hücrelerin birbirinden ayrılabilmesi için Annexin V boyamasına PI analizi eşlik etmiştir. PI, membran bütünlüğünü koruyan canlı hücrelere giremezken, membran geçirgenliğinin arttığı hücrelerde hücre içine geçerek nükleik asitlerle etkileşmektedir. Annexin V ve PI sinyallerinin birlikte değerlendirilmesiyle hücreler dört farklı popülasyona ayrılmıştır. Her iki boya açısından negatif olan hücreler canlı, Annexin V pozitif/PI negatif hücreler erken apoptotik, Annexin V ve PI pozitif hücreler geç apoptotik, Annexin V negatif/PI pozitif hücreler ise nekrotik hücreler olarak değerlendirilmiştir. Kiral tiyoüre türevlerinin MCF-7 hücrelerinde oluşturduğu apoptotik ve nekrotik hücre ölümünün belirlenmesi amacıyla hücreler, deney planında belirlenen inkübasyon süreleri boyunca kültüre edilmiştir. İnkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından kontrol ve uygulama gruplarına ait hücre kültür ortamları Falcon tüplerine alınmıştır. Kuyucuklarda kalan hücrelerin toplanabilmesi amacıyla her bir kuyucuk 0.5 mL DPBS ile yıkanmış ve elde edilen yıkama sıvıları ilgili tüplere aktarılmıştır. Hücrelerin kültür yüzeyinden uzaklaştırılması için kuyucuklara 0.3-0.5 mL tripsin eklenmiş ve hücreler 37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ içeren inkübatörde 3-5 dakika inkübe edilmiştir. Hücrelerin yüzeyden ayrılması tamamlandıktan sonra komplet besiyeri ilave edilmiş ve oluşan hücre süspansiyonları Falcon tüplerinde birleştirilmiştir. Hücre süspansiyonları 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek hücrelerin çöktürülmesi sağlanmıştır. Santrifüj sonrasında süpernatant uzaklaştırılmış ve elde edilen hücre pelletleri 0.5 mL soğuk DPBS içerisinde yeniden süspanse edilmiştir. Hafif pipetajın ardından örnekler aynı santrifüj koşullarında tekrar santrifüjlenmiştir. Hücrelerin DPBS ile yıkanması aynı koşullarda bir kez daha gerçekleştirilerek toplam iki yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işlemlerinin ardından her bir hücre örneğine 100 µL Annexin V Binding Buffer eklenmiştir. Bunu takiben 2,5 µL FITC-konjuge Annexin V ve 5 µL Propidium Iodide ilave edilmiş, boyaların hücre süspansiyonu içerisinde homojen şekilde dağılması için örnekler nazikçe karıştırılmıştır. Boyama işleminin gerçekleşmesi amacıyla örnekler ışıktan korunarak 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda her bir tüpe 400 µL Annexin V Binding Buffer eklenmiş ve örnekler akış sitometrik analize hazır hâle getirilmiştir. Hazırlanan hücre örnekleri Cytex® Guava® Muse® Cell Analyzer akış sitometri cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen veriler Annexin V ve PI sinyalleri temelinde değerlendirilmiş; canlı, erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücre popülasyonlarının yüzdesel dağılımları belirlenmiştir.

4. BULGULAR

Bu bölümde, tez çalışması kapsamında tasarlanan ve asimetrik sentez yoluyla elde edilen kiral kinazolin türevi tiyoüre bileşiklerine ilişkin sentez sonuçları ve yapısal karakterizasyon verileri sunulmuştur. Sentezlenen bileşiklerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve FT-IR spektroskopik analizlerinin yanı sıra optik çevirme açısı ve kiral HPLC ölçümleri ile incelenmiştir. Karakterizasyon çalışmalarının ardından, elde edilen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanseri ve HUH-7 hücre hatları üzerindeki antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen in vitro çalışmaların sonuçları verilmiştir. Elde edilen biyolojik aktivite verileri, sentezlenen bileşiklerin hücre canlılığı üzerindeki etkileri temelinde değerlendirilmiştir.

4.1. Genel Yöntemler

Sentezlenen bileşiklerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla proton ve karbon nükleer manyetik rezonans ($^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$) analizlerinden yararlanılmıştır. NMR spektrumları, 400 MHz çalışma frekansına sahip Varian Mercury ve Bruker marka cihazlar kullanılarak elde edilmiştir. Spektrumlarda gözlenen kimyasal kaymalar (δ) kloroform referans alınarak ppm cinsinden ifade edilmiştir. Elde edilen $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-NMR}$ verileri, sentezlenen bileşiklerin yapısal özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

Sentezlenen katı ürünlerin erime noktaları Gallenkamp MPD 350 erime noktası tayin cihazı ile belirlenmiştir. Erime noktası değerleri, elde edilen ürünlerin fiziksel özelliklerinin belirlenmesi ve karakterizasyon verilerinin desteklenmesi amacıyla değerlendirilmiştir. Bileşiklerin fonksiyonel grup özelliklerinin incelenmesi amacıyla FT-IR spektrumları Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR spektrofotometresi kullanılarak kaydedilmiştir. Ölçümler ATR (Attenuated Total Reflectance) aksesuarı ile gerçekleştirilmiş ve elde edilen absorpsiyon bantları cm^{-1} cinsinden verilmiştir. FT-IR analizlerinden elde edilen karakteristik bantlar, bileşiklerin yapılarında bulunan fonksiyonel grupların değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

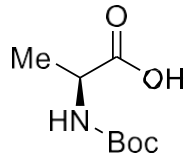
Optikçe aktif bileşiklerin enantiyomerik saflıkları kiral yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle incelenmiştir. Kromatografik analizler Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enantiyomerlerin ayrılması için kiral OB ve OD-H kolonlarından yararlanılmış, hareketli faz olarak n-heksan/izopropanol karışımı kullanılmıştır. Kromatografik ölçümler 240-270 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

Bu analizler, sentezlenen optikçe aktif bileşiklerin enantiyomerik özelliklerinin değerlendirilmesine yönelik olarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin optik dönme değerleri ise 20 °C'de çalışan Bellingham + Stanley ADP220 polarimetre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Ürünlerin saflaştırılması kolon kromatografisi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerde sabit faz olarak Merck Silika Jel 60 (70-230 mesh) kullanılmıştır. Reaksiyonların ilerleyişi ve elde edilen ürünlerin saflığı ince tabaka kromatografisi (TLC) yöntemiyle takip edilmiştir. TLC analizlerinde Merck Silika Jel 60 PF254 kaplı, 20 × 20 cm boyutlarında alüminyum plakalar kullanılmıştır. Plakalar üzerinde ayrılan bileşikler, 254 ve 356 nm dalga boylarında UV ışığı altında incelenerek değerlendirilmiştir. Kolon kromatografisi ve TLC analizleri, sentez aşamalarında ürünlerin saflaştırılması ve reaksiyonların ilerleyişinin kontrol edilmesi amacıyla kullanılmıştır.

HRMS (yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi) analizleri, Agilent 6530 AB-Sciex 4600 Q-TOF cihazı ile yapılmıştır.

4.2. Deneyler

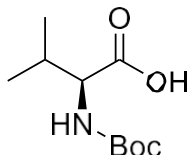
4.2.1 (S)-AlaninNHBoc (2a) Sentezi



L-alanin (1a) (3,71 g, 41,7 mmol), 250 mL'lik balon içerisinde 50 mL su ve 5 mL THF karışımında çözündürüldü. Çözelti 0 °C'ye soğutulduktan sonra sırasıyla Na₂CO₃ (8,84 g, 83,4 mmol) ve (Boc)₂O (10,01 g, 45,9 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra 15 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandığında karışım yeniden buz banyosunda soğutuldu ve %10'luk hidroklorik asit çözeltisi kullanılarak ortamın pH'ı 2'ye ayarlandı. Asitleştirme işleminin ardından reaksiyon karışımı etil asetat (3 × 100 mL) ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar doymuş tuzlu su ile yıkandı ve susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutuldu. Kurutma işlemi sonrasında çözücü, döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırıldı. Saflaştırma işlemi sonucunda (S)-alaninNHBoc (2a), 7,10 g (37,53 mmol) miktarında ve %90 verimle elde edildi. Beyaz katı, **en** 79-81°C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 12.36 (bs, 1H), 7.05 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 3.91 (p, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.34 (s, 9H), 1.18

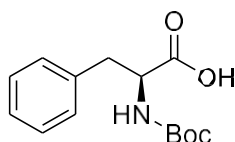
(d, $J = 7.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 175.3, 155.9, 78.5, 49.3, 28.8, 17.6; IR (KBr, cm^{-1}) 3384, 2988, 1731, 1691, 1521, 1455, 1372, 1293, 1233, 1165; $[\alpha]_D = -26$ (c 2, AcOH); ee %99.

4.2.2 (S)-ValinNHBoc (2b) Sentezi



L-valinin (1b) Boc ile korunması, Bölüm 4.2.1’de açıklanan genel prosedür esas alınarak gerçekleştirildi. Reaksiyonda L-valin (1b) 4,88 g (41,7 mmol), Na_2CO_3 8,84 g (83,4 mmol) ve $(\text{Boc})_2\text{O}$ 10,01 g (45,9 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-valinNHBoc (2b), 8,61 g (39,6 mmol) miktarında ve %95 verimle elde edildi. Beyaz katı, en 77-80 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 12.44 (bs, 1H), 6.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 3.75 (dd, $J = 8.6, 6.1$ Hz, 1H), 2.06-1.90 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 0.85 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.83 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 174.1, 156.3, 78.5, 59.7, 30.1, 28.7, 19.8, 18.7; IR (KBr, cm^{-1}) 3331, 2970, 2933, 1714, 1661, 1513, 1395, 1369, 1163; $[\alpha]_D = -6$ (c 1, AcOH); ee %99.

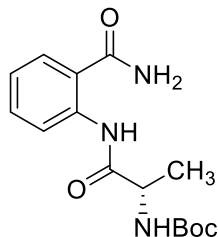
4.2.3 (S)- FenilalaninNHBoc (2c) Sentezi



L-fenilalaninin (1c) Boc ile korunması, Bölüm 4.2.1’de verilen prosedür doğrultusunda gerçekleştirildi. Reaksiyonda L-fenilalanin (1c) 6,88 g (41,7 mmol), Na_2CO_3 8,84 g (83,4 mmol) ve $(\text{Boc})_2\text{O}$ 10,01 g (45,9 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-fenilalaninNHBoc (2c), 10,62 g (40,03 mmol) miktarında ve %96 verimle elde edildi. Beyaz katı, en 87-89 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 12.58 (bs, 1H), 7.36- 7.14 (m, 5H), 7.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.06 (ddd, $J = 10.3, 8.4, 4.5$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 13.7, 4.5$ Hz, 1H), 2.81 (dd, $J = 13.7, 10.4$ Hz, 1H), 1.31 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 174.1, 156.1, 138.7, 129.7, 128.6, 126.8, 78.6,

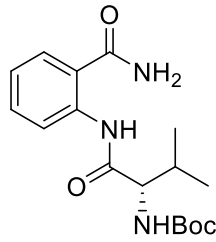
55.7, 37.0, 28.7; **IR** (KBr, cm^{-1}) 3418, 3331, 2978, 2931, 1716, 1646, 1498, 1403, 1368, 1165, 1056; $[\alpha]_{\text{D}} = +26$ (c 1, EtOH); **ee** %99.

4.2.4 (S)- Amit (3a) Sentezi



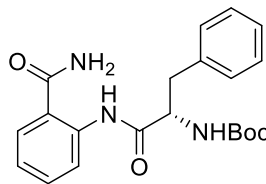
(S)-AlaninNH₂Boc (2a) (5,67 g, 30 mmol), 250 mL'lik balon içerisinde 50 mL THF kullanılarak çözüldü ve çözelti 0 °C'ye soğutuldu. Bu sıcaklıkta NEt₃ (3,04 g, 30 mmol) damla damla ilave edildi. Ardından, 10 mL THF içerisinde hazırlanan EtOCOC₂H₅ (3,25 g, 30 mmol) çözeltisi reaksiyon ortamına yavaşça aktarıldı ve karışım 10 dakika süreyle karıştırıldı. Bu işlemin ardından, THF (40 mL) içerisinde çözüldürülmüş antranil amid (6,13 g, 45 mmol) reaksiyon karışımına ilave edildi. Reaksiyon, oda sıcaklığında 12 saat süreyle devam ettirildi. Reaksiyon süresinin sonunda çözücünün büyük bölümü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Kalan karışım etil asetat içerisinde alınarak sırasıyla su, 3 M HCl (2 × 60 mL) ve doymuş tuz çözeltisi ile yıkama işlemine tabi tutuldu. Organik faz susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutuldu ve çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Ham ürün olarak (S)-amit (3a), 7,83 g (25,5 mmol) miktarında ve %85 verimle elde edildi. Ürün, hekzan/CH₂Cl₂ karışımından kristallendirilerek beyaz katı halinde elde edildi. **en** 107-109 °C; **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 12.00 (bs, 1H), 8.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.19 (bs, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.57 (bs, 1H), 7.52-7.38 (m, 2H), 7.17-7.01 (m, 1H), 3.94-3.90 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.26 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 172.6, 171.0, 156.1, 140.1, 131.6, 129.21, 122.8, 120.4, 120.4, 79.0, 52.1, 28.7, 18.0; **IR** (KBr, cm^{-1}) 3416, 3332, 3224, 2977, 2932, 1691, 1626, 1587, 1503, 1451, 1392, 1293, 1248, 1163, 1062; $[\alpha]_{\text{D}} = -66.3$ (c 1, EtOH); **ee** %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 18.6 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

4.2.5 (S)-Amit (3b) Sentezi



(S)-ValinNH₂Boc (2b) kullanılarak gerçekleştirilen sentezde, Bölüm 4.2.4'te açıklanan prosedür esas alındı. Reaksiyonda (S)-valinNH₂Boc (2b) 6,49 g (30 mmol), NEt₃ 3,04 g (30 mmol), EtOCOC₂H₅ 3,25 g (30 mmol) ve antranil amid 6,13 g (45 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-amit (3b), 7,55 g (22,5 mmol) miktarında ve %75 verimle elde edildi. Hekzan/CH₂Cl₂ üzerinden kristallendirilerek beyaz katı olarak elde edildi, **en** 115- 117 °C; **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 11.91 (bs, 1H), 8.51 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.21 (bs, 1H), 7.76 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.59 (bs, 1H), 7.51-7.38 (m, 1H), 7.25 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.17-7.02 (m, 1H), 3.73 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 2.27-2.01 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 0.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.87 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 171.3, 171.1, 156.5, 139.8, 132.6, 129.1, 123.1, 120.6, 120.5, 78.8, 62.5, 30.1, 28.8, 19.7, 18.6; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3411, 3340, 3213, 2964, 2932, 1672, 1624, 1521, 1451, 1392, 1282, 1240, 1172, 1044; **[α]_D** = -62.0 (c 1, EtOH); **ee** %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 11.2 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

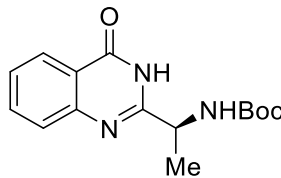
4.2.6 (S)-Amit (3c) Sentezi



(S)-FenilalaninNH₂Boc (2c) kullanılarak gerçekleştirilen sentezde, Bölüm 4.2.4'te açıklanan prosedür esas alındı. Reaksiyon için (S)-fenilalaninNH₂Boc (2c) 7,96 g (30 mmol), NEt₃ 3,04 g (30 mmol), EtOCOC₂H₅ 3,25 g (30 mmol) ve antranil amid 6,13 g (45 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasıyla (S)-amit (3c), 8,63 g (22,5 mmol) miktarında ve %75 verimle elde edildi. Elde edilen ürün, hekzan/EtOAc karışımından kristallendirilerek beyaz katı

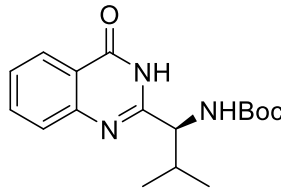
şeklinde izole edildi. **en** 174-175 °C; **¹H NMR** (400 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 12.06 (bs, 1H), 8.51 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.17 (bs, 1H), 7.76 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.58 (bs, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.27-7.23 (m, 4H), 7.21- 7.12 (m, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.88-3.53 (m, 1H), 3.15 (dd, *J* = 13.7, 4.0 Hz, 1H), 2.85 (dd, *J* = 13.6, 10.7 Hz, 1H), 1.30 (s, 9H); **¹³C NMR** (100 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 171.4, 171.0, 156.1, 139.8, 139.0, 132.6, 129.6, 129.1, 128.7, 126.8, 123.1, 120.7, 120.5, 79.0, 58.4, 37.3, 28.8; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3420, 3346, 2981, 2930, 1698, 1628, 1588, 1503, 1448, 1387, 1296, 1251, 1159, 1048; **[α]_D** = -48.0 (c 1, EtOH); **ee** %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 30.8 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

4.2.7 (S)-KinazolinonNHBoc (4a) Sentezi



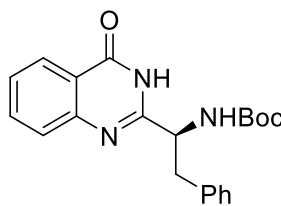
(S)-Amid (3a) (6,15 g, 20 mmol), 100 mL'lik balon içerisinde 40 mL etanolde çözündürüldü ve reaksiyon ortamı buz banyosu kullanılarak 0-3 °C'ye soğutuldu. Bu sıcaklık korunarak 10 M NaOH çözeltisi (8 mL, 3,2 g, 80 mmol) yavaşça ilave edildi. Reaksiyon karışımı 30 dakika boyunca karıştırıldı. Sürenin sonunda reaksiyonun seyri TLC ile kontrol edildi ve reaksiyonun tamamlandığı belirlendi. Reaksiyon karışımı bir erlene aktarılarak buz banyosunda soğutuldu. Ardından derişik hidroklorik asit çözeltisi kontrollü şekilde ilave edilerek ortamın pH'ı 7,2'ye getirildi. Nötrleştirme işlemi tamamlandıktan sonra karışıma 50 mL saf su ilave edildi ve ürünün çökmesi beklendi. Oluşan katı, vakum altında süzülerek ayrıldı. Böylece (S)-kinazolinonNHBoc (4a), beyaz renkli katı olarak 5,38 g (18,60 mmol) miktarında ve %93 verimle elde edildi. **En** 196-197 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 11.75 (bs, 1H), 8.31 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.80-7.72 (m, 1H), 7.72-7.67 (m, 1H), 7.51-7.41 (m, 1H), 5.69 (bs, 1H), 5.01-4.68 (m, 1H), 1.61 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.41 (s, 9H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 163.6, 156.8, 155.6, 149.0, 134.8, 127.6, 126.8, 126.5, 121.1, 80.5, 50.1, 28.4, 20.2; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3357, 3181, 3133, 2980, 2931, 1690, 1611, 1512, 1448, 1366, 1328, 1248, 1167, 1054; **[α]_D** = -58.0 (c 1, 189 EtOH); **ee** %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 19.1 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

4.2.8 (S)-KinazolinonNHBoc (4b) Sentezi



(S)-KinazolinonNHBoc (4b) sentezi, Bölüm 4.2.7’de açıklanan prosedür doğrultusunda gerçekleştirildi. Başlangıç maddesi olarak (S)-amit (3b) 6,70 g (20 mmol) ve 10 M NaOH çözeltisi 8 mL (3,2 g, 80 mmol) miktarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-kinazolinonNHBoc (4b), beyaz renkli katı halinde 5,97 g (18,8 mmol) miktarında ve %94 verimle elde edildi. **En** 145-147 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 11.91 (bs, 1H), 8.30 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H), 7.81-7.73 (m, 1H), 7.72-7.70 (m, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.74 (bs, 1H), 4.64-4.55 (m, 1H), 2.37-2.27 (m, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.02 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 163.6, 156.0, 155.8, 149.1, 134.8, 127.6, 126.7, 126.5, 121.0, 80.1, 59.6, 32.5, 28.4, 19.7, 18.1; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3378, 3176, 3131, 2974, 2927, 1688, 1614, 1512, 1468, 1365, 1334, 1235, 1166, 1088; **[α]_D** = -69.0 (c 1, EtOH); **ee** %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 6.5 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

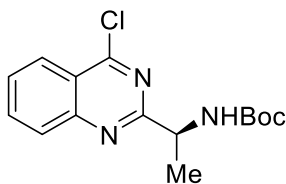
4.2.9 (S)-KinazolinonNHBoc (4c) Sentezi



(S)-KinazolinonNHBoc (4c) sentezi, Bölüm 4.2.7’de belirtilen prosedür esas alınarak gerçekleştirildi. Reaksiyonda (S)-amit (3c) 7,28 g (19 mmol) ve 10 M NaOH çözeltisi 7,6 mL (3,04 g, 76 mmol) miktarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-kinazolinonNHBoc (4c), beyaz renkli katı halinde 6,60 g (18,05 mmol) miktarında ve %95 verimle elde edildi. **En** 223-225 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 11.21 (bs, 1H), 8.31 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.78 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.51 (t, *J* = 7.1 Hz,

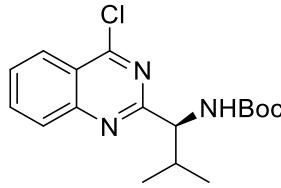
1H), 7.32-7.08 (m, 5H), 5.52 (bs, 1H), 5.04 4.81 (m, 1H), 3.34 (dd, $J = 13.8, 5.6$ Hz, 1H), 3.26-3.12 (m, 1H), 1.37 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 163.2, 155.4, 149.0, 136.1, 134.8, 129.6, 128.7, 127.7, 127.2, 127.0, 126.7, 121.2, 80.7, 55.4, 40.0, 28.4; IR (KBr, cm^{-1}) 3360, 3175, 3029, 2981, 2917, 1701, 1685, 1610, 1518, 1467, 1365, 1336, 1242, 1171, 1047; $[\alpha]_D = -41.0$ (c 1, CH_2Cl_2); ee %99; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 22.3 dk, Chiralcel OD-H kolon, n -hekzan/ i PrOH (90:10), akış hızı: 1.0 mL/dk, 254 nm.

4.2.10 (S)-4-KlorokinazolinNHBoc (5a) Sentezi



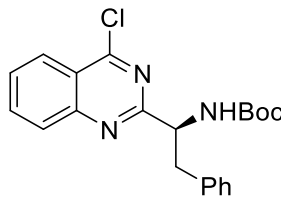
(S)-KinazolinonNHBoc (4a) (3,00 g, 10,4 mmol), 50 mL benzen içerisinde çözüldü. Çözeltiye N,N -dietilanilin (3,10 g, 20,8 mmol) ve POCl_3 (4,78 g, 31,2 mmol) ilave edilerek reaksiyon karışımı hazırlandı. Karışım 30 dakika boyunca reflüks koşullarında ısıtıldı. Reaksiyon süresinin tamamlanmasının ardından ortam oda sıcaklığına soğutuldu ve 50 mL EtOAc ilave edildi. Elde edilen karışım sırasıyla buzlu su (35 mL), 1 M HCl çözeltisi (2×35 mL) ve doymuş NaCl çözeltisi (35 mL) ile yıkandı. Organik faz susuz Na_2SO_4 üzerinde kurutulduktan sonra süzülde. Çözücü düşük basınç altında uzaklaştırılarak ham ürün elde edildi. Ham ürün kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Petrol eteri/EtOAc (4:1) elüent sistemi kullanılarak gerçekleştirilen saflaştırmada, ilk fraksiyondan (S)-4-klorokinazolinNHBoc (5a) 3,04 g (9,8 mmol) miktarında ve %95 verimle beyaz katı olarak izole edildi. **En** 80-82 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 8.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.94 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.69 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 5.84 (bs, 1H), 5.14-4.98 (m, 1H), 1.57 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.45 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 166.0, 163.2, 155.3, 151.2, 135.2, 128.6, 128.5, 126.1, 122.6, 79.5, 52.4, 28.5, 22.1; IR (KBr, cm^{-1}) 3424, 3346, 2976, 2930, 1714, 1615, 1571, 1482, 1458, 1365, 1250, 1166, 1051; $[\alpha]_D = -54.1$ (c 1.6, CH_2Cl_2).

4.2.11 (S)-4-KlorokinazolinNH₂Boc (5b) Sentezi



(S)-KinazolinonNH₂Boc (4b) kullanılarak gerçekleştirilen sentezde, Bölüm 4.2.10'da açıklanan yöntem esas alındı. Reaksiyon için (S)-kinazolinonNH₂Boc (4b) 3,17 g (10 mmol), N,N-dieterilanolin 2,98 g (20 mmol) ve POCl₃ 4,60 g (30 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-4-klorokinazolinNH₂Boc (5b), 3,19 g (9,5 mmol) miktarında ve %95 verimle renksiz, yağimsı bir madde olarak izole edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 8.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.93 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.69 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.67 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.94 (dd, *J* = 8.9, 5.2 Hz, 1H), 2.48-2.21 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.97 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 165.0, 162.5, 156.1, 151.0, 135.1, 128.7, 128.5, 125.8, 122.5, 79.3, 61.2, 33.7, 28.5, 19.8, 17.6; IR (KBr, cm⁻¹) 3438, 3366, 2966, 2930, 1713, 1615, 1570, 1498, 1481, 1391, 1365, 1302, 1251, 1170; [α]_D = -52.9 (c 1.1, CH₂Cl₂).

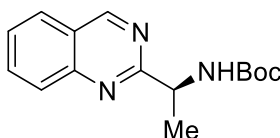
4.2.12 (S)-4-KlorokinazolinNH₂Boc (5c) Sentezi



(S)-KinazolinonNH₂Boc (4c) kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonda, Bölüm 4.2.10'da açıklanan prosedür uygulandı. Başlangıç maddesi olarak (S)-kinazolinonNH₂Boc (4c) 4,02 g (10 mmol), N,N-dieterilanolin 2,98 g (20 mmol) ve POCl₃ 4,59 g (30 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-4-klorokinazolinNH₂Boc (5c), 3,64 g (9,5 mmol) miktarında ve %95 verimle renksiz, yağimsı bir madde olarak elde edildi. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 8.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.01-7.85 (m, 2H), 7.68 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.24-7.08 (m, 3H), 7.03-6.97 (m, 2H), 5.71 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.37-5.30 (m, 1H), 3.44 (dd, *J* = 13.6, 5.2

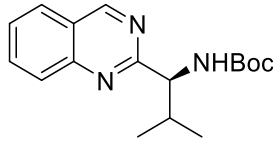
Hz, 1H), 3.25 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 1H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 164.4, 162.8, 155.5, 151.0, 137.1, 135.0, 129.8, 128.6, 128.6, 128.2, 126.5, 126.1, 122.5, 79.5, 57.2, 41.0, 28.5; **IR** (KBr, cm^{-1}) 3424, 3347, 3027, 2975, 2931, 1710, 1614, 1570, 1495, 1482, 1456, 1391, 1365, 1308, 1251, 1167, 1051; $[\alpha]_{\text{D}} = -46.5$ (c 1.3, CH_2Cl_2).

4.2.13 (S)-KinazolinNHBoc (6a) Sentezi



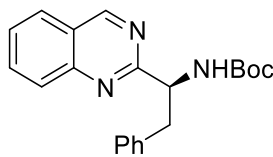
(S)-4-KlorokinazolinNHBoc (5a) (923 mg, 3 mmol), 100 mL'lik yuvarlak dipli balona aktarıldı ve 30 mL THF içerisinde çözüldü. Oda sıcaklığındaki reaksiyon ortamına TEMED (627 mg, 5,4 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (104 mg, 0,09 mmol) ve NaBH_4 (204 mg, 5,4 mmol) sırasıyla ilave edildi. Reaktiflerin tamamının eklenmesinden sonra reaksiyon karışımı, 70°C 'de geri soğutucu altında 1 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım oda sıcaklığına getirildi ve çözücü düşük basınç altında uzaklaştırıldı. Geride kalan kalıntı 100 mL DCM ile çözüldü. Organik faz üç kez 20 mL su ile yıkandıktan sonra 50 mL doymuş NaCl çözeltisi ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Organik faz susuz Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve süzüldü. Çözücünün vakum altında uzaklaştırılmasıyla ham ürün elde edildi. Ham ürün, kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırıldı. Hekzan/etil asetat (2:1) karışımı elüent olarak kullanıldığında, ilk fraksiyondan (S)-kinazolinNHBoc (6a) 678 mg (2,25 mmol) miktarında izole edildi ve %75 verim elde edildi. Son olarak ürün, hekzan/etil asetat karışımından kristallendirilerek beyaz renkli katı formunda saflaştırıldı. **Rf** 0.64 Hekzan/EtOAc, 1:1; **en** 46-48 $^\circ\text{C}$ ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 9.35 (s, 1H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.94-7.83 (m, 2H), 7.61 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.04 (bs, 1H), 5.20-5.02 (m, 1H), 1.58 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.45 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , ppm) δ 166.7, 160.8, 155.4, 150.0, 134.3, 128.2, 127.5, 127.2, 123.7, 79.3, 52.7, 28.5, 22.3; **IR** (KBr, cm^{-1}) 3420, 2976, 2930, 1711, 1621, 1586, 1571, 1492, 1456, 1405, 1365, 1247, 1167, 1050; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 9.7 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (75:25); $[\alpha]_{\text{D}} = -61$ (c 1, CH_2Cl_2).

4.2.14 (S)-KinazolinNHBoc (6b) Sentezi



(S)-KinazolinNHBoc (6b) sentezi, Bölüm 4.2.13'te açıklanan prosedür temel alınarak gerçekleştirildi. Reaksiyonda başlangıç maddesi olarak (S)-4-klorokinazolinNHBoc (5b) 1,22 g (3,63 mmol) kullanıldı. Reaksiyon ortamına TEMED (717 mg, 6,17 mmol), Pd(PPh₃)₄ (127 mg, 0,11 mmol) ve NaBH₄ (233 mg, 6,17 mmol) ilave edildi. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-kinazolinNHBoc (6b), 766 mg (2,54 mmol) miktarında ve %70 verimle elde edildi. Elde edilen ürün, hekzan/EtOAc karışımından kristallendirilerek beyaz renkli katı halinde saflaştırıldı. **R_f** 0.72 (Hekzan/EtOAc, 1:1) **en** 117-119 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.34 (s, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.93-7.83 (m, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.98 (dd, *J* = 8.4, 5.2 Hz, 1H), 2.41-2.26 (m, 1H), 1.47 (s, 9H), 0.98 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 165.6, 160.2, 156.2, 150.1, 134.1, 128.3, 127.4, 127.1, 123.6, 79.1, 61.4, 34.1, 28.5, 19.8, 17.5; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3345, 2964, 2933, 1697, 1621, 1583, 1571, 1513, 1487, 1365, 1297, 1234, 1166, 1014. [α]_D = -0.73 (c 1, CH₂Cl₂), **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 5.5 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25) [α]_D = -73 (c 1, CH₂Cl₂).

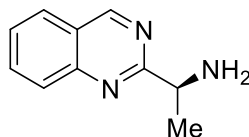
4.2.15 (S)-KinazolinNHBoc (6c) Sentezi



(S)-KinazolinNHBoc (6c) sentezi, Bölüm 4.2.13'te verilen prosedür esas alınarak gerçekleştirildi. Başlangıç maddesi olarak (S)-4-klorokinazolinNHBoc (5c) 974 mg (2,54 mmol) miktarında kullanıldı. Reaksiyon ortamına TEMED (502 mg, 4,32 mmol), Pd(PPh₃)₄ (88 mg, 0,076 mmol) ve NaBH₄ (168 mg, 4,32 mmol) ilave edildi. Reaksiyonun tamamlanmasıyla (S)-kinazolinNHBoc (6c), 798 mg (2,01 mmol) miktarında ve %90 verimle elde edildi. Ürün,

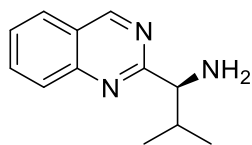
hekzan/EtOAc karışımından kristallendirilerek beyaz renkli katı halinde izole edildi. **R_f** 0.69 (Hekzan/EtOAc, 1:1); **en** 92-94 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.35 (s, 1H), 7.97-7.81 (m, 3H), 7.64 (t, *J* = 7.31 Hz, 1H), 7.24-7.06 (m, 3H), 6.93 (m, 2H), 5.90 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.41-5.36 (m, 1H), 3.46 (dd, *J* = 13.4, 5.3 Hz, 1H), 3.31 (dd, *J* = 13.4, 6.1 Hz, 1H), 1.43 (s, 9H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 165.2, 160.5, 155.3, 150.1, 137.2, 134.3, 129.7, 128.2, 128.1, 127.6, 127.2, 126.4, 123.6, 79.3, 57.4, 41.2, 28.5; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3346, 3062, 3023, 2980, 2924, 1690, 1617, 1571, 1528, 1488, 1366, 1251, 1170, 1048; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 8.8 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25); [**α**]_D = -0.42 (c 1, CH₂Cl₂).

4.2.16 (S)-1-(Kinazolin-2-il)etan-1-amin (7a)



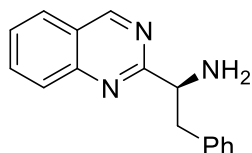
(S)-KinazolinNH₂Boc (6a) (547 mg, 2 mmol), 50 mL'lik yuvarlak dipli balona aktarıldı ve 20 mL DCM içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamı 0 °C'ye soğutulduktan sonra TFA (2,28 g, 20 mmol) kontrollü biçimde damla damla ilave edildi. TFA ilavesinin tamamlanmasının ardından karışım oda sıcaklığına getirildi ve 24 saat boyunca manyetik karıştırma altında reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon süresinin sonunda karışım buz banyosunda soğutuldu ve doymuş NaHCO₃ çözeltisi ilave edilerek pH 7'ye ayarlandı. Elde edilen karışım DCM (3 × 50 mL) ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik faz, 50 mL doymuş NaCl çözeltisi ile yıkandı ve susuz Na₂SO₄ üzerinde kurutuldu. Kurutma işleminin ardından organik faz süzüldü ve çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Ham ürünün saflaştırılması için DCM/MeOH (19:1) elüent sistemi kullanılarak kolon kromatografisi uygulandı. Saflaştırma sonucunda (S)-1-(kinazolin-2-il)etan-1-amin (7a), 410 mg (1,5 mmol) miktarında ve %75 verimle izole edildi. **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.36 (s, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.91-7.87 (m, 2H), 7.64-7.60 (m, 1H), 4.53 (q, *J* = 6.8 Hz), 4.33 (bs, 2H), 1.63 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 168.1, 161.1, 150.1, 134.4, 128.2, 127.6, 127.2, 123.7, 53.3, 22.7; **IR** (KBr, cm⁻¹) 1487, 1556, 1567, 1618, 2866, 2926, 2972, 3059, 3271; [**α**]_D = +39 (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 14.4 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.17 (S)-2-Metil-1-(kinazolin-2-il)propan-1-amin (7b)



(S)-2-Metil-1-(kinazolin-2-il)propan-1-amin (7b) sentezi, Bölüm 4.2.16’da açıklanan prosedür doğrultusunda gerçekleştirildi. Reaksiyonda başlangıç maddesi olarak (S)-kinazolinNH₂Boc (6b) 603 mg (2 mmol) ve TFA 2,28 g (20 mmol) miktarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-2-metil-1-(kinazolin-2-il)propan-1-amin (7b), 314 mg (1,56 mmol) miktarında ve %78 verimle elde edildi. **R_f** 0.33 (DCM/MeOH, 4:1) ; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.38 (s, 1H), 8.03-8.01 (m, 1H), 7.92- 7.89 (m, 2H), 7.62 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 2.46 (brs, NH₂, 2H), 2.37-2.29 (m, 1H), 0.97 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.94 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 168.6, 160.2, 149.8, 134.2, 128.1, 127.2, 127.1, 123.5, 63.4, 34.2, 20.2, 17.3; **IR** (KBr, cm⁻¹) 1485, 1556, 1580, 1614, 2867, 2923, 2955, 3058, 3286; [α]_D = -27 (c 1, CH₂Cl₂), **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 5.2 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (75:25).

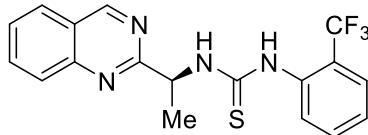
4.2.18 (S)-2- Fenil-1-(kinazolin-2-il)etan-1-amin (7c)



(S)-2-Fenil-1-(kinazolin-2-il)etan-1-amin (7c) sentezi, Bölüm 4.2.16’da verilen prosedür esas alınarak gerçekleştirildi. Başlangıç maddesi olarak (S)-*tert*-butil (2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etil)karbamat (6c) 699 mg (2 mmol) ve TFA 2,28 g (20 mmol) miktarlarında kullanıldı. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından (S)-2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etan-1-amin (7c), 403 mg (1,62 mmol) miktarında ve %81 verimle elde edildi. **R_f** 0.31 (DCM/MeOH, 4:1); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.42 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.96-7.88 (m, 2H), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.39-7.09 (m, 5H), 4.58 (dd, *J* = 8.8, 4.8 Hz, 1H), 3.45 (dd, *J* = 13.4, 4.6 Hz, 1H), 3.01 (dd, *J* = 13.3, 9.1 Hz, 1H), **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 168.5, 160.6, 150.2, 138.7, 134.2, 129.5, 128.4, 128.2, 127.4, 127.1, 126.4, 123.6, 59.5, 44.3; **IR** (KBr, cm⁻¹) 1484, 1556,

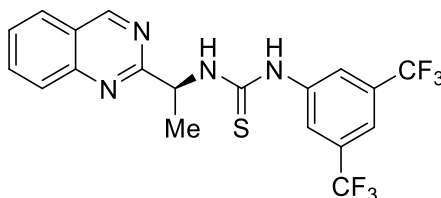
1585, 1615, 3024, 3053, 3270, 3360; $[\alpha]_D = -8$ (c 0.5, CH₂Cl₂), **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 16.8 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH (75:25).

4.2.19 (S)-1-(1-(kinazolin-2-il)etil)-3-(2-(triflorometil)fenil)tiyoüre (8a1)



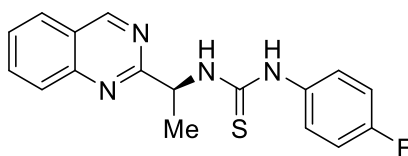
Rf 0.41 (EtOAc/pet eter, 1:1.5); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.35 (s, 1H), 7.95-7.87 (m, 3H), 7.83-7.78 (m, 1H), 7.77-7.68 (m, 3H), 7.66-7.62 (m, 2H), 7.56-7.47 (m, 1H), 5.79 (bs, 1H), 1.72 (d, *J* = 6.9 Hz 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 180.1, 165.9, 161.3, 149.7, 134.8, 133.4, 128.9, 128.0, 127.9, 127.6, 126.5, 126.2, 124.8, 123.8, 122.1, 56.8, 27.1; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3281, 3146, 2969, 2157, 2003, 1618, 1574, 1525, 1455, 1292, 1163, 962, 819; $[\alpha]_D = +42$ (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 15.6 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.20 (S)-1-(3,5-bis(triflorometil)fenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a2)



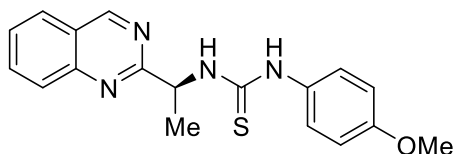
Rf 0.49 (EtOAc/pet eter, 1:1.5); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.41 (s, 1H), 8.71 (bs, 1H), 8.45 (bs, 1H), 8.02-7.90 (m, 5H), 7.75-7.65 (m, 2H), 5.90 (bs, 1H), 1.70 (d, *J* = 5.6 Hz 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 179.4, 161.4, 149.9, 139.1, 135.2, 128.3, 128.3, 127.9, 127.8, 127.6, 124.4, 123.9, 123.6, 123.6, 121.8, 119.2, 119.1, 57.0, 21.8; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3325, 3178, 2967, 2138, 2030, 1738, 1620, 1521, 1380, 1284, 1119, 960, 880; $[\alpha]_D = +26$ (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 9.3 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.21 (S)-1-(4-florofenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a3)



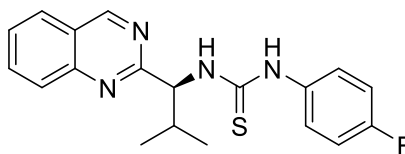
Rf 0.39 (EtOAc/pet eter, 1:1.5); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.36 (s, 1H), 7.95-7.90 (m, 3H), 7.81-7.76 (m, 1H), 7.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.20 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 5.80 (bs, 1H), 1.72 (d, *J* = 6.8 Hz 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 179.8, 166.0, 162.7.9, 161.3, 149.7, 134.8, 128.0, 127.7, 127.6, 127.5, 123.8, 117.2, 116.9, 56.8, 27.1; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3350, 3161, 2924, 2848, 2128, 2040, 1738, 1618, 1503, 1375, 1215, 1152, 961, 834; [**α**]_D = +105 (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 17.6 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.22 (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8a4)



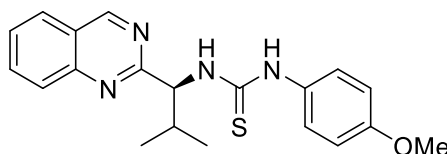
Rf 0.32 (EtOAc/pet eter, 1:1.5); **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9.36 (s, 1H); 7.93-7.89 (m, 3H); 7.81-7.79 (m, 2H); 7.65 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H); 7.32 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H); 7.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H); 5.83 (bs, 1H); 3.89 (s, 3H); 1.71 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 179.9, 166.1, 161.1, 158.8, 149.7, 134.6, 129.3, 128.0, 127.8, 127.6, 127.5, 123.8, 115.3, 56.7, 55.8, 22.0; [**α**]_D = 112 (c 1, CH₂Cl₂); **IR** (KBr, cm⁻¹) 33350, 3172, 2924, 2850, 2138, 2014, 1738, 1619, 1506, 1373, 1240, 1177, 1030, 964, 828; **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 24.8 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.23 (S)-1-(4-florofenil)-3-(2-metil-1-(kinazolin-2-il)propil)tiyoüre (8b3)



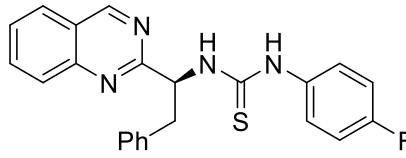
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9,34 (s, 1H); 7.94 -7.85 (m, 3H); 7.79 (bs, 1H); 7.67-7.63 (m, 1H); 7.54 (bs, 1H); 7.40-7.35 (m, 1H); 7.20 (t, J = 8.3 Hz, 2H); 5.86 (bs, 1H); 2.63-2.46 (m, 1H); 0.90 (d, J = 6.8 Hz 6H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 180.9; 164.7; 160.5; 149.8; 134.6; 128.2; 127.9; 127.7; 127.4; 123.8; 117.3; 117.0; 65.5; 34.0; 19.2; 18.6; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3182, 3024, 2958, 2926, 2869, 2141, 2014, 1960, 1737, 1618, 1503, 1375, 1215, 1151, 970, 831; **[α]_D** = 97 (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 13.0 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.24 (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(2-metil-1-(kinazolin-2-il)propil)tiyoüre (8b4)



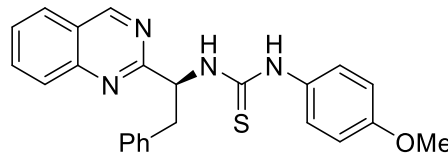
Et₂O/sikloheksan üzerinden kristallendirildi, **en** 131.5-133 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9,33 (s, 1H); 7.93 -7.86 (m, 4H); 7.52 (dt, J = 7.8 Hz, 1.7 Hz, 1H); 7.51-7.42 (bs, 1H); 7.33-7.29 (m, 2H); 7.02 (d, J = 8.7 Hz, 2H); 5.87 (bs, 1H); 3.88 (s, 3H); 0.90 (d, J = 6.8 Hz 6H); **¹³C NMR** (100 MHz, CDCl₃, ppm) δ 181.1; 164.9; 160.4; 158.9; 149.8; 134.5; 129.2; 129.1; 127.8; 127.7; 127.3; 123.8; 115.3; 65.5; 55.8; 34.0; 19.3; 18.6; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3353, 3152, 2958, 2866, 214, 2033, 1948, 1738, 1620, 1507, 1377, 1247, 1165, 973, 829; **[α]_D** = 178.3 (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 17.5 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.25 (S)-1-(4-florofenil)-3-(2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8c3)



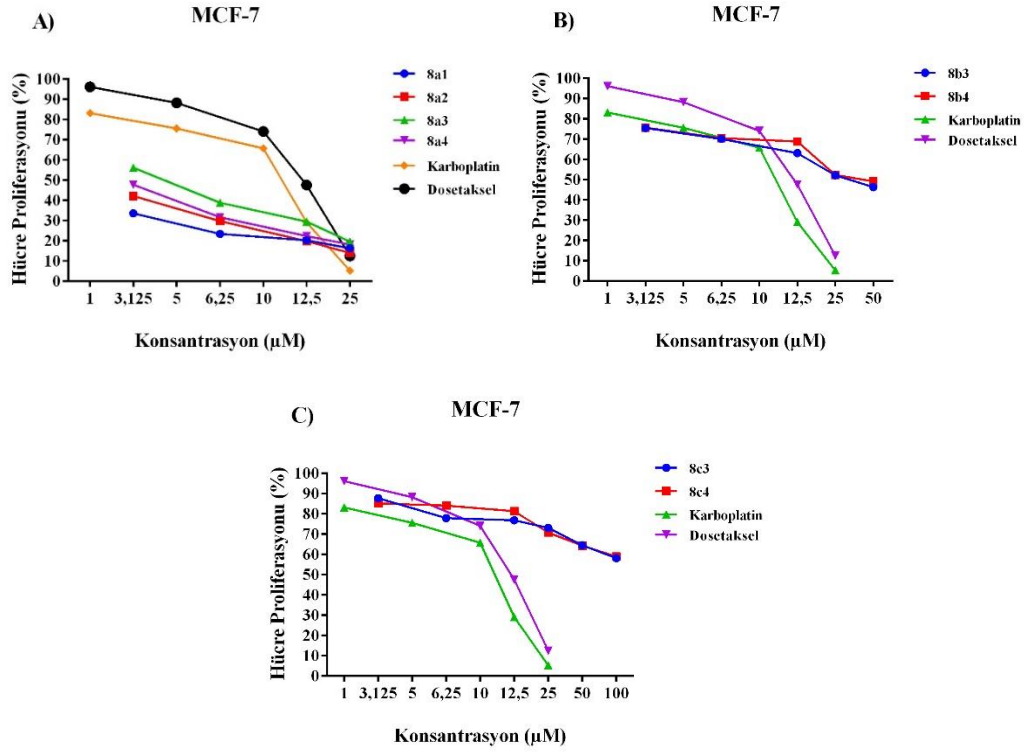
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9,35 (s, 1H), 8.02-7.94 (bs, 1H), 7.93-7.85 (m, 2H), 87.70-7.54 (m, 3H), 7.15-7.04 (m, 5H), 6,05 (bs, 1H), 3.83-3.75 (m, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.49-3.44 (m, AB sisteminin B kısmı, 1H), **¹³C NMR** (100 Hz, CDCl₃, ppm) δ 179.7, 164.1, 162.5, 160.8, 149.5, 136.6, 134.7, 129.8, 128.2, 128.1, 128.0, 127.6, 127.5, 127.5, 126.7, 123.7, 117.0, 116.8, 61.0, 39.8; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3271, 3166, 3024, 2968, 2921, 2854, 2181, 2036, 1737, 1617, 1502, 1374, 1215, 1152, 963, 833; [α]_D = -2.9 (c 1, CH₂Cl₂); **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 20.0 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

4.2.26 (S)-1-(4-metoksifenil)-3-(2-fenil-1-(kinazolin-2-il)etil)tiyoüre (8c4)

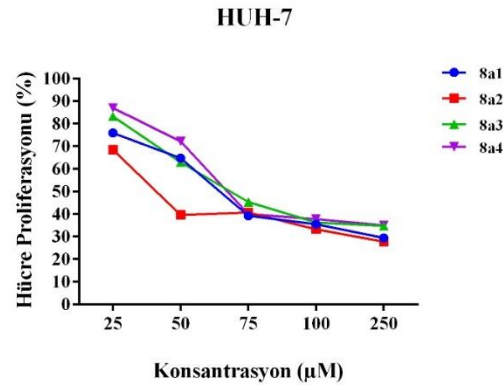


Et₂O/siklohekzan üzerinden kristallendirildi, **en** 174-176 °C; **¹H NMR** (400 MHz, CDCl₃, ppm) δ 9,33 (s, 1H), 7.90-7.82 (m, 2H), 7.49 (bs, 1H), 7.68 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.61 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 7.11-7.03 (m, 5H), 6.91-6.88 (m, 2H), 6,07 (bs, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.78-3.73 (m, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.47-3.43 (m, AB sisteminin B kısmı, 1H), **¹³C NMR** (100 Hz, CDCl₃, ppm) δ 180.0, 164.3, 160.7 158.7, 149.6, 136.7, 134.54, 129.7, 129.4, 128.2, 127.9, 127.5, 127.4, 126.8, 123.7, 115.2, 61.0, 55.8, 40.1; **IR** (KBr, cm⁻¹) 3344, 3173, 3016, 2969, 2141, 2011, 1738, 1616, 1510, 1365, 1217, 1027, 941, 849; [α]_D = +27 (c 1, CH₂Cl₂) **Kiral HPLC Analizi** Alıkonma süresi: 27.2 dk, Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*PrOH (75:25).

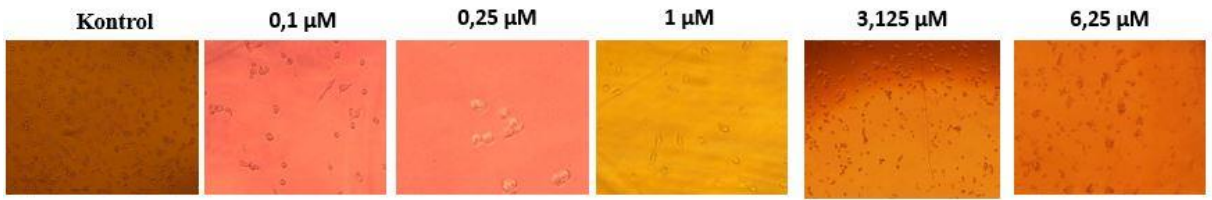
4.3 8a1-8c4'ün MCF-7 (İnsan Meme Kanseri) ve HUH-7 (Karaciğer Kanseri) Hücre Hatları Üzerindeki Antiproliferatif Aktivitelerinin Belirlenmesi



Şekil 4.3.1. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin 8a1-a4 (A), 8b1-b4 (B) ve 8c1-c4 (C) ile kemoterapötik ilaçlar karboplatin ve dosetakselin, MCF-7 hücreleri üzerindeki farklı konsantrasyonlardaki (1-100 µM) antiproliferatif etkileri.



Şekil 4.3.2. Kinazolin temelli kiral tiyoüre türevlerinden 8a grubu bileşiklerin HUH-7 karaciğer kanseri hücre hattı üzerindeki doz bağımlı (25-250 µM) antiproliferatif etkileri.



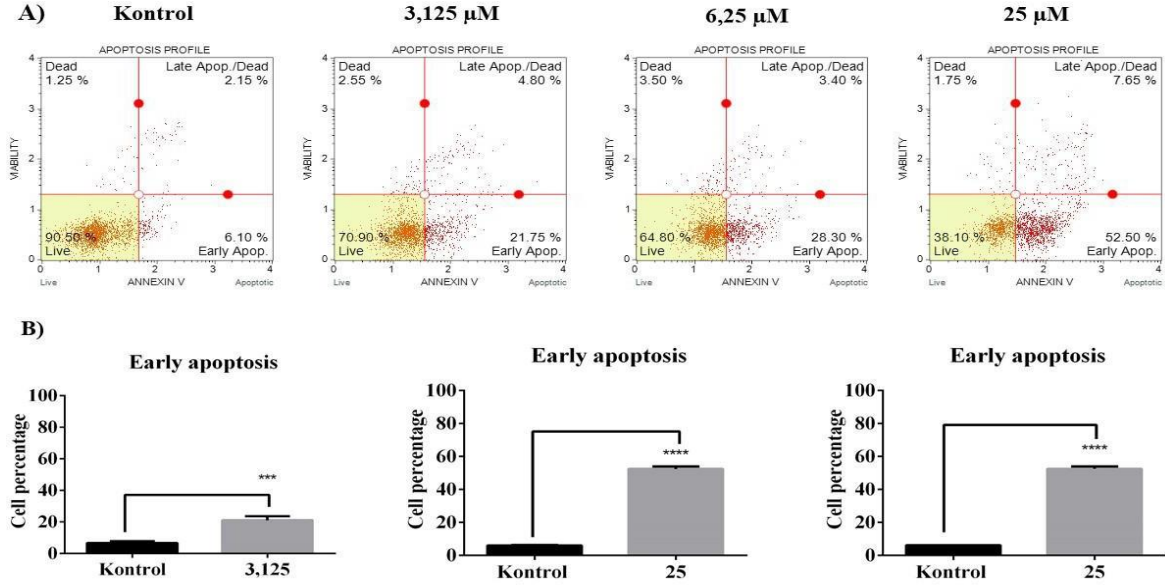
Şekil 4.3.3. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiği **8a2**'nin MCF-7 kanser hücre hattı üzerindeki doz bağımlı antiproliferatif etkisine ait mikroskopik görüntüleri.

Tablo 4.3.1. Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin (8a1-c4) ve referans kemoterapötik ilaçlar karboplatin ve dosetakselin farklı kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif aktivitelerinin IC₅₀ değerleri (µM).

Test bileşikleri	MCF-7	HUH-7
8a1	0,68±0,02	96,63±1,34
8a2	0,63±0,04	67,83±0,85
8a3	1,89±0,23	108,04±1,26
8a4	3,82±0,12	111,57±2,05
8b3	68,63±1,15	NA
8b4	>100	NA
8c3	≥50	NA
8c4	>100	NA
Karboplatin	7,77±0,09	NA
Dosetaksel	12,65±0,36	NA

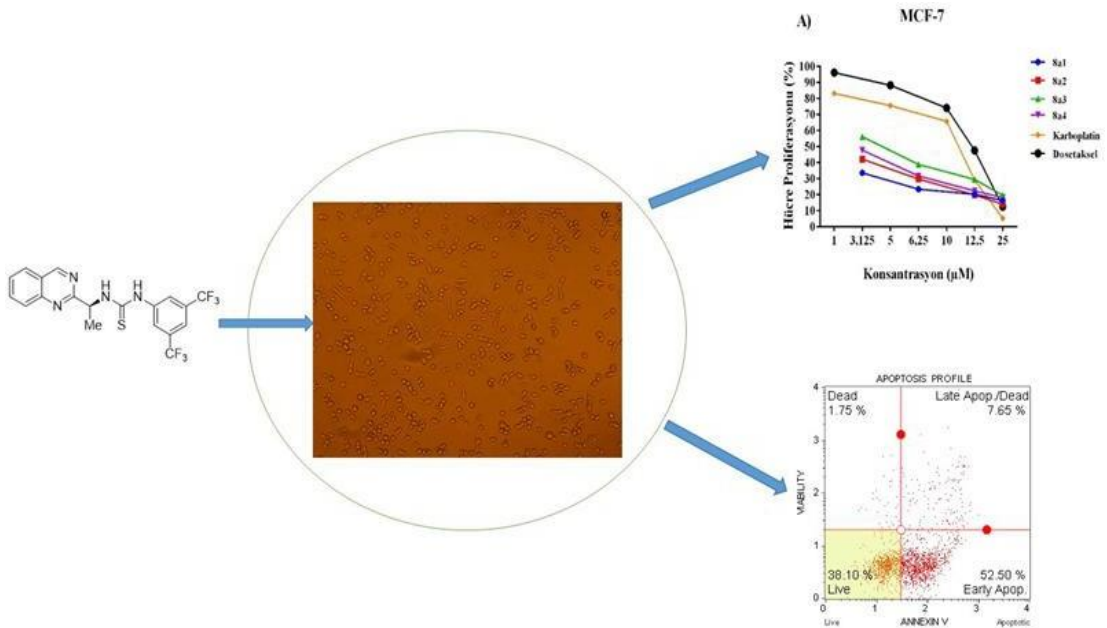
NA: Tatbik edilmedi.

4.4 8a2 Bileşiğinin MCF-7 Hücrelerinde Hücre Ölümü ve Apoptoz Üzerine Etkisi



Şekil 4.4.1 Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiği **8a2**'nin MCF-7 hücreleri üzerindeki doz bağımlı apoptotik etkisi. **A)** Annexin V-FITC/PI çift boyama sonuçlarının akış sitometrik analizine ait dot-plot grafikleri. **B)** Erken apoptoz oranlarına ilişkin istatistiksel sonuçlar. Deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde ifade edilmiştir. $p < 0,05$ (anlamlı), $p < 0,01$ (çok anlamlı), $p < 0,001$ (çok anlamlı), $p < 0,0001$ (aşırı anlamlı).

Kısaltılmış biçimde verilerin bir göstergesi olarak, grafiksel ilgili görsel aşağıdaki şekilde özetlenmiştir.



Şekil 4.4.2. Grafiksel Özet

5. TARIŞMA VE SONUÇ

Kanser, dünya çapında yüksek ölüm oranlarına yol açan ve insidansı sürekli artış gösteren hastalık gruplarının başında gelmektedir. Her altı ölümden birinin kanserle ilişkilendirilmesi ve yeni tanı konulan olgu sayısındaki yükseliş, hastalığın altında yatan biyolojik mekanizmaların daha derinlemesine kavranmasını ve tedaviye yönelik özgün stratejilerin geliştirilmesini zorunlu kılan bir tablo ortaya koymaktadır (WHO, 2021). Klinik uygulamada halihazırda çok sayıda kemoterapötik ajan kullanılıyor olsa da, tedavi sürecinde karşılaşılan ilaç direnci, sistemik toksisite ve tümör dokusuna yönelik yetersiz seçicilik gibi sorunlar aşılamamıştır. Bu tablo, farklı kimyasal iskeletlere sahip ve özgün biyolojik etki mekanizmaları taşıyabilecek yeni bileşiklerin keşfini, antikanser ilaç araştırmalarının güncelliğini koruyan başlıca uğraş alanlarından biri haline getirmektedir.

Tiyöüre fonksiyonel grubunu bünyesinde barındıran bileşikler, gösterdikleri çok yönlü biyolojik etki profili nedeniyle farmasötik kimya literatüründe uzun süredir ilgi gören yapılar arasında yer almaktadır. Bu bileşiklerin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antitüberküloz etkinliklerinin yanı sıra antikanser potansiyel de sergileyebildiği çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Abbas ve ark., 2013; Tatar ve ark., 2016; Chen ve ark., 2009). Tiyöüre grubunun moleküler iskelete katılması, hidrojen bağı verici/alıcı özelliklerin çeşitlenmesine ve bunun sonucunda bileşiğin biyolojik hedeflerle kurduğu etkileşim örüntüsünün farklılaşmasına zemin hazırlayabilmektedir. Nitekim peptit yapılara tiyöüre biriminin eklenmesinin yapısal kararlılığı etkileyebildiği ve enzim-substrat ilişkisinde alışılmışın dışında bağlanma modlarının ortaya çıkmasına yol açabildiği bildirilmiştir (Huang ve ark., 2016; Achilefu ve ark., 2002). Kükürt atomunun karbonil oksijenine kıyasla zayıf bir hidrojen bağı alıcısı olması, tiyöüre protonlarının nispeten yüksek asiditesi ve grubun çift yönlü hidrojen bağı kurabilme kapasitesiyle bir arada değerlendirildiğinde, bu yapının biyomoleküler tanıma süreçlerinde avantaj sağlayabileceği öne sürülmüştür (Doyle ve Jacobsen, 2007).

Literatürde tiyöüre türevlerinin antikanser etkinliğine ilişkin kayda değer birikim bulunmasına karşın, kiralite taşıyan tiyöüre bileşiklerinin biyolojik aktivitesini konu alan çalışmaların halen sınırlı sayıda kaldığı görülmektedir. Molekül bünyesindeki kiral merkezin üç boyutlu geometriyi belirleyici biçimde etkilemesi, biyolojik hedeflerle kurulan etkileşimin de büyük ölçüde stereokimyasal özelliklere bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Kinazolin

çekirdeğinin antikanser bileşik tasarımında sıklıkla başvurulmuş bir heterosiklik iskelet olması ile tiyoüre grubunun geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahip olması bir arada değerlendirildiğinde, bu iki yapısal unsurun tek bir molekülde birleştirilmesi araştırılmaya değer bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Mevcut tez çalışması, tam da bu gerekçeyle kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin hazırlanmasını ve antikanser potansiyellerinin hücresel düzeyde ortaya konmasını amaçlamıştır.

Sentetik çalışmalarda başlangıç maddesi olarak doğal kiral amino asitler olan alanin (2a), valin (2b) ve fenilalanin (2c) tercih edilmiştir. İzlenen sentetik yol dahilinde önce kinazolinon türevleri (4a-c) elde edilmiş, bu bileşiklerin 4-pozisyonundan klorlanmasıyla 4-klorokinazolinler (5a-c) hazırlanmıştır. Söz konusu ara ürünlerin Pd katalizli NaBH₄ indirgemesine tabi tutulması sonucunda 6a-c bileşikleri %90'a yaklaşan verimlerle elde edilmiş, koruyucu grubun ayrılmasının ardından kiral kinazolin aminler (7a-c) %75-81 aralığında verimle hazırlanmıştır. Sentetik dizinin son basamağında 7a-c bileşiklerinin farklı aril izotiyosiyanatlarla (ArNCS) muamele edilmesiyle hedef bileşikler olan kinazolin temelli kiral tiyoüreler (8a1-8c4) %80'in üzerinde verimle sentezlenmiştir. Basamaklar boyunca elde edilen verimlerin genel olarak yüksek seyretmesi, izlenen sentez stratejisinin hedef bileşik ailesinin hazırlanması için uygulanabilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Yapısal doğrulama aşamasında ¹H ve ¹³C NMR ile IR spektroskopisinden yararlanılmış, erime noktası tayinlerine ek olarak kiral bileşiklerin optik saflığı kiral HPLC ile, spesifik çevirme açıları ise polarimetrik ölçümlerle belirlenmiştir. Elde edilen bulguların bütüncül değerlendirilmesi, sentezlenen bileşiklerin önerilen kimyasal yapılarla uyum içinde olduğunu ortaya koymaktadır. Örnek olarak 8a1 bileşiğine ait ¹H NMR spektrumunda 1,72 ppm'de gözlenen dublet sinyal metil protonlarına, 5,78 ppm'deki geniş singlet kiral merkeze bağlı protona, 9,35 ppm'deki singlet ise kinazolin halkasının 4-pozisyonundaki protona karşılık gelmektedir; aromatik bölgede sekiz protona karşılık gelen integrasyon değerleri de önerilen yapıyı desteklemektedir. ¹³C NMR spektrumunda 180,1 ppm civarında gözlenen sinyal tiyoüre grubuna ait tiyokarbonil karbonuna atfedilirken, alifatik ve kinazolin halkası karbonları, izotiyosiyanattan gelen aromatik sinyaller ile 127,5 ppm'deki CF₃ karbonu 8a1 yapısını doğrulayan tamamlayıcı kanıtlar sunmaktadır. Benzer şekilde 8a4 bileşiğinde ¹H NMR'de 3,87 ppm ve ¹³C NMR'de 55,8 ppm'de gözlenen sinyaller, molekülde bulunan metoksi (OMe) grubunun varlığıyla örtüşmektedir.

Yapısal karakterizasyonun tamamlanmasının ardından sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri değerlendirilmiştir. Hücre canlılığına dayalı kolorimetrik testler yeni sentezlenen bileşiklerin biyolojik etkinliğinin karşılaştırılmasında sıklıkla tercih edilen yöntemlerdendir; bu çalışmada da elde edilen IC_{50} değerleri bileşiklerin moleküler yapısal özellikleriyle birlikte yorumlanmıştır. Seçilen bazı bileşiklerin ayrıca HUH-7 hücrelerinde test edilmesiyle, iki farklı hücresel model arasındaki duyarlılık farkları da karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. MCF-7 hücrelerine ait bulgular Şekil 4.3.1'de, HUH-7 sonuçları Şekil 4.3.2'de, IC_{50} değerleri ise Tablo 4.3.1'de sunulmuştur; en güçlü etkinliği gösteren 8a2 bileşiğine ait doz bağımlı morfolojik değişimler ise Şekil 4.3.3'te görselleştirilmiştir.

8a serisi bileşiklerin 1-25 μ M konsantrasyon aralığında 24 saatlik uygulaması sonucunda, MCF-7 hücrelerinde konsantrasyona bağlı belirgin bir proliferasyon azalması gözlenmiş ve serideki tüm üyeler farklı düzeylerde antiproliferatif etkinlik sergilemiştir (Şekil 4.3.1-A). En düşük IC_{50} değeri 0,65 μ M ile 8a2 bileşiğinde saptanmış, bunu sırasıyla 8a1 (0,68 μ M), 8a4 (1,89 μ M) ve 8a3 (3,82 μ M) izlemiştir (Tablo 4.3.1). Bu sıralama, serinin en etkin üyesinin 8a2, en zayıf etkinliğe sahip üyesinin ise 8a3 olduğuna işaret etmektedir.

Bileşiklerin aril halkasında taşıdığı sübstitüentler dikkate alındığında, bu grupların aktivite üzerinde belirleyici bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. CF_3 veya F gibi elektron çekici gruplar taşıyan 8a1, 8a2 ve 8a3 bileşiklerinin IC_{50} değerleri birbirinden farklılık gösterse de, üçünün de MCF-7 hücrelerinde düşük mikromolar veya bu düzeyin altında etkinlik sergilediği görülmektedir. Elektron verici OMe grubu taşıyan 8a4 ise 8a1 ve 8a2'ye kıyasla daha yüksek bir IC_{50} değerine sahiptir; bununla birlikte 1,89 μ M düzeyindeki bu değer, söz konusu bileşiğin de MCF-7 hücreleri üzerinde göz ardı edilemeyecek bir antiproliferatif etki taşıdığını göstermektedir.

8a2'nin 8a1'e kıyasla daha düşük bir IC_{50} değeri sergilemesi, iki bileşik arasındaki ince yapısal farklılıklarla ilişkilendirilebilir. 8a2 yapısında yer alan iki adet CF_3 grubunun molekülün elektronik dağılımını ve fizikokimyasal özelliklerini değiştirmesi, bileşiğin hücre içi davranışını veya olası biyolojik hedeflerle kurduğu etkileşimi etkilemiş olabilir. Elektron çekici sübstitüentlerin bazı antikanser aday bileşiklerde etkinliği artırdığı yönünde bulgular literatürde de bildirilmiştir (El Hassani ve ark., 2025). Bununla birlikte bu çalışmada gözlenen aktivite farkının tek bir moleküler mekanizmaya indirgenerek açıklanması temkinli bir yaklaşım

gerektirmektedir; hücresel IC_{50} değerleri bileşiklerin genel antiproliferatif kapasitesini yansıtmakla birlikte, etkiden sorumlu spesifik moleküler hedeflerin aydınlatılması için ileri düzey deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

8a4 bileşiğinin de düşük mikromolar düzeyde etkinlik göstermesi, elektron verici OMe grubunun bu seri içerisindeki antiproliferatif potansiyeli ortadan kaldırmadığını düşündürmektedir. Elektron verici süstitüentlerin aromatik sistemin elektronik özelliklerini değiştirerek molekülün biyolojik hedeflerle olan etkileşimlerini etkileyebildiği bilinmektedir (Rouzi ve ark., 2024). Bununla birlikte, 8a4 bileşiğinde gözlenen etkinliğin yalnızca süstitüentin elektron verici veya elektron çekici karakteri üzerinden açıklanması yeterli olmayabilir. Molekülün lipofilik özellikleri, sterik hacmi ve hedef bölgeyle oluşturabileceği olası etkileşimler de bileşiğin antiproliferatif aktivitesini etkileyebilecek diğer yapısal özellikler olarak değerlendirilmelidir.

8a1-8a4 bileşiklerinin MCF-7 hücrelerindeki IC_{50} değerleri, klinikte kullanılan karboplatin ve dosetaksel ile karşılaştırıldığında da dikkat çekici bir tablo ortaya çıkmaktadır. Sırasıyla 0,68, 0,63, 3,82 ve 1,89 μM olarak belirlenen bu değerler, karboplatin (7,77 μM) ve dosetaksel (12,65 μM) için elde edilen değerlerin belirgin biçimde altında kalmaktadır. Bu bulgu, incelenen deney koşulları çerçevesinde 8a serisinin MCF-7 hücrelerine karşı güçlü antiproliferatif adaylar olabileceğine işaret etmektedir. Ancak farklı bileşiklere ait IC_{50} değerlerinin karşılaştırılmasında hücre yoğunluğu, inkübasyon süresi, uygulama koşulları ve kullanılan analiz yöntemi gibi deneysel değişkenlerin etkisi göz ardı edilmemelidir; dolayısıyla bu karşılaştırma, söz konusu bileşiklerin klinik kullanımdaki ilaçlardan üstün olduğu biçiminde yorumlanmamalıdır.

8b serisine ait bulgular 8a serisiyle karşılaştırıldığında belirgin biçimde daha düşük bir aktivite profili ortaya koymaktadır. 3,125-100 μM aralığında 24 saat uygulanan 8b1-8b4 bileşikler konsantrasyon artışına bağlı olarak proliferasyonda azalma sağlamıştır (Şekil 4.3.1-B). En düşük IC_{50} değeri 13,50 μM ile 8b2'de bulunurken, 8b3 için bu değer 68,63 μM olarak hesaplanmış, 8b1 ve 8b4 bileşiklerinde ise IC_{50} 100 μM 'ın üzerinde kalmıştır (Tablo 4.3.1). Bu veriler, 8b serisinin genel etkinliğinin 8a serisine kıyasla belirgin ölçüde zayıf kaldığını göstermektedir.

8b serisi kendi içinde incelendiğinde, aril sübstitüentine ilişkin benzer bir eğilimin tekrarlandığı görülmektedir: iki CF₃ grubu taşıyan 8b2 serinin en aktif üyesi olurken, F grubu içeren 8b3 ikinci sırada yer almış, 8b1 ve 8b4 ise daha yüksek IC₅₀ değerleriyle geride kalmıştır. Bu düzen, aril halkasındaki elektron çekici grupların etkinliğe olumlu katkı sağlayabileceği yönündeki gözlemi bir kez daha desteklemektedir. Bununla birlikte 8a ve 8b serileri arasındaki genel aktivite farkı göz önüne alındığında, aril sübstitüentinin tek başına açıklayıcı bir parametre olmadığı anlaşılmaktadır.

İki seri arasındaki temel yapısal ayrım, kinazolin ve tiyoüre grupları arasında konumlanan sübstitüenttir: 8a serisinde metil, 8b serisinde ise daha hacimli izopropil grubu bulunmaktadır. Bu farklılığın molekülün sterik özelliklerini ve olası konformasyonel tercihlerini etkilemesi beklenebilir. İzopropil grubunun daha büyük hacme sahip olması, hedef biyomoleküllerle kurulan etkileşimlerde sterik açıdan sınırlayıcı bir unsur oluşturabilir; ancak elde edilen deneysel veriler bu yorumu doğrudan kanıtlar niteliğinde değildir. Bu bakımdan iki seri arasındaki aktivite farkının moleküler hacim, konformasyon ve fizikokimyasal özelliklerin bütüncül bir değerlendirmesiyle ele alınması daha isabetli olacaktır.

8c serisinin MCF-7 hücrelerindeki etkinliği de aynı konsantrasyon aralığında (3,125-100 µM) incelenmiş, 24 saatlik uygulama sonrasında konsantrasyona bağlı bir antiproliferatif yanıt artışı gözlenmiştir (Şekil 4.3.1-C). Bu seride en düşük IC₅₀ değeri 34,69 µM ile 8c2'de belirlenmiş, 8c1 ve 8c3 yaklaşık 50 µM düzeyinde benzer değerler göstermiş, 8c4'te ise IC₅₀ 100 µM'ın üzerine çıkmıştır (Tablo 4.3.1). Bu sonuçlara göre 8c serisinin genel etkinlik düzeyi hem 8a hem de 8b serisinin gerisinde kalmıştır.

8c serisini diğer iki gruptan ayıran temel yapısal özellik, kinazolin ve tiyoüre grupları arasında yer alan fenil sübstitüentidir. Fenil grubunun metile kıyasla daha hacimli ve daha rijit bir yapı sunması, molekülün üç boyutlu geometrisini değiştirmiş olabilir; 8c serisinin 8a serisine göre daha düşük etkinlik göstermesi bu yapısal farklılıkla ilişkilendirilebilir. Öte yandan 8c ve 8b serilerinin birbirine yakın aktivite düzeyleri sergilemesi, moleküler hacmin tek başına belirleyici bir parametre olmadığını düşündürmektedir. Bu bağlamda öne sürülen yapı-aktivite ilişkisinin, daha geniş kapsamlı bir bileşik serisi ve moleküler modelleme çalışmalarıyla desteklenmesi gerektiği açıktır.

En yüksek etkinliği gösteren 8a2 bileşiğinin MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi mikroskopik gözlemlerle de teyit edilmiştir. Kontrol grubunda hücrelerin 24 saat sonunda yüzeye tutunarak normal morfolojik görünümlerini koruduğu izlenirken, 8a2 uygulanan gruplarda konsantrasyon arttıka hücre sayısında azalma ve morfolojik bozulmalar gözlenmiştir. En düşük doz olan 3,125 μ M'de hücre popülasyonunda azalma ve şekil bozukluğu görülmüş, 25 μ M'lik en yüksek dozda ise hücrelerin yaklaşık %70'inin yüzeyden ayrılarak süspansiyon haline geçtiği ve normal morfolojisini yitirdiği belirlenmiştir (şekil 4.3.3). Mikroskopik bulguların hücre canlılığı verileriyle örtüşmesi, 8a2'nin MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisini destekleyen tamamlayıcı bir gözlem niteliği taşımaktadır.

Çalışmanın planlama aşamasında, sentezlenen on iki kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiğinin hem MCF-7 hem de MDA-MB-453 meme kanseri hücre hatlarında değerlendirilmesi  ng r lm ştir; bu sayede farklı hücresel özellikler taşıyan iki meme kanseri modeli arasında aktivite karşılaştırması yapılması ve olası reseptör kaynaklı farklılıkların ortaya konması hedeflenmiştir. Ne var ki biyolojik aktivite deneylerinin y r t ld ğu süreçte laboratuvarda bulunan MDA-MB-453 hücrelerinde yüksek düzeyde kontaminasyon meydana gelmiş ve bu hücre hattından güvenilir veri elde edilememiştir. Yurt içindeki farklı araştırma merkezleriyle yapılan görüşmelere rağmen hücre hattının yeniden temini sağlanamamış, yurt dışından temininin ise s re ve bütçe kısıtları nedeniyle mümkün olmaması sonucunda MDA-MB-453 hücreleriyle planlanan deneyler tamamlanamamıştır.

Antikanser potansiyelin değerlendirilmesinde hücre seçiciliği kritik bir parametredir; bu amaçla proje önerisinde MCF-10A hücrelerinin kullanılması planlanmıştır. Ancak biyolojik aktivite çalışmalarına geçildiğinde, MCF-10A hücrelerinin çoğaltılması için gerekli kültür ortamının 100 ng/ml düzeyinde kolera toksini içermesi gerektiği (ATCC kültür protokolü) ve bu maddenin temininde ciddi kısıtlamalar bulunduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle MCF-10A hücreleri çalışmaya dahil edilememiş, alternatif bir hücre modeli olarak HUH-7 hücre hattı tercih edilmiştir.

8a serisi bileşiklerin MCF-7 hücrelerinde sergilediği güçlü etkinliğin ardından, aynı bileşiklerin HUH-7 hücrelerindeki davranışı da incelenmiştir. 25-250 μ M konsantrasyon aralığında 24 saat uygulanan bileşikler, konsantrasyona bağlı bir proliferasyon azalması meydana getirmiştir (şekil 4.3.2). HUH-7 hücrelerinde de en düşük IC₅₀ değerı 8a2 bileşiğinde saptanmış olup bu değer 67,83 μ M olarak hesaplanmıştır; 8a1, 8a3 ve 8a4 için sırasıyla 96,63, 108,04 ve 111,57

μM IC_{50} değerleri elde edilmiştir (Tablo 4.3.1). MCF-7 hücreslerinde elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, 8a grubunun HUH-7 hücreslerinde etkinlik göstermesi için çok daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyduğu görölmektedir.

Bu fark özellikle 8a2 bileşiğinde belirgindir: MCF-7 hücreslerinde 0,63 μM olan IC_{50} değeri, HUH-7 hücreslerinde 67,83 μM 'e yükselmektedir. Diğer 8a bileşiklerinde de benzer bir örüntünün gözlenmesi, serinin genel olarak MCF-7 hücreslerine HUH-7 hücreslerinden daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte HUH-7'nin sağlıklı bir karaciğer hücresi değil, hepatoselüler karsinom kökenli bir hücre hattı olduğu unutulmamalıdır. Dolayısıyla burada elde edilen sonuçlar, bileşiklerin farklı kanser hücre tiplerine karşı gösterdiği duyarlılık farkına dair bir karşılaştırma verisi sunmakla birlikte, "normal hücre seçiciliği" ifadesiyle kesinleştirilebilecek bir sonuca ulaşmak için uygun normal hücre modelleriyle ayrıca çalışma yürütölmesi gerekmektedir.

Apoptoz, hücrelerin kontrollü ve düzenli biçimde ortadan kaldırılmasını sağlayan temel hücresel mekanizmalardan biridir; bu mekanizmadaki bozulmaların kanser gelişimi ve tedaviye direnç ile ilişkilendirilmesi, apoptotik yolların yeniden etkinleştirilmesini antikanser araştırmalarında öne çıkan bir strateji haline getirmiştir (Soares ve ark., 2010). Apoptoz süreci hem hücre içi hem de hücre dışı sinyallerle tetiklenebilmekte, mitokondriyal membran bütönlüğünün bozulması ve proteaz aktivasyonu gibi ardışık olaylar zincirini içermektedir (Asadi ve ark., 2022). Kanser hücrelerinde apoptotik sinyal düzenlenmesindeki sapmaların tedaviye verilen yanıtı doğrudan etkileyebilmesi nedeniyle, yeni bileşiklerin apoptoz indölleme kapasitesinin değerlendirilmesi antikanser aday moleköllerin araştırılmasında yaygın olarak başvurulan bir yaklaşımdır (Shahar ve Larisch, 2020). Nitekim birçok kemoterapötik ajanın antitümör etkisinin de büyük ölçüde apoptoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Yu ve ark., 2022).

Bu doğrultuda, MCF-7 hücreslerinde en düşük IC_{50} değerini veren 8a2 bileşiğinin apoptotik hücre ölümünü artırıp artırmadığını belirlemek amacıyla Annexin V-FITC/PI ift boyama yöntemi uygulanmıştır. MCF-7 hücresleri 8a2'nin üç farklı konsantrasyonuyla 24 saat süreyle inkübe edilmiş, apoptotik hücre oranları akış sitometrisiyle belirlenmiştir. Kontrol grubunda %6,10 olan apoptotik hücre oranı, 3,125 μM 8a2 uygulamasında %21,75'e ($p<0,001$), 6,25 μM 'de %28'e ($p<0,0001$) ve 25 μM 'de %52,50'ye ($p<0,0001$) yükselmiştir (Şekil 4.4.1).

Konsantrasyon artışına paralel olarak apoptotik hücre oranındaki bu yükseliş, 8a2'nin MCF-7 hücrelerinde oluşturduğu antiproliferatif etkinin apoptotik süreçlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle en yüksek doz uygulamasında kontrol grubuna kıyasla gözlenen belirgin artış, bileşiğin hücre canlılığındaki azalmaya apoptoz üzerinden katkı sağlayabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte Annexin V-FITC/PI yöntemi, apoptotik hücre oranındaki değişimi ortaya koymakla birlikte, sürecin hangi moleküler yolak üzerinden ilerlediğini tek başına aydınlatmamaktadır. Bu nedenle 8a2'nin tetiklediği hücre ölümünün moleküler temelini netleştirilmesi için kaspaz aktivitesi, Bax/Bcl-2 oranı, mitokondriyal membran potansiyeli ve ilgili gen/protein ekspresyon düzeylerini kapsayan ileri düzey çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Genel bir değerlendirme yapıldığında, sentezlenen kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin MCF-7 hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkinliğinin moleküler yapıdaki değişikliklerden belirgin biçimde etkilendiği görülmektedir. Özellikle 8a serisinde elde edilen düşük IC_{50} değerleri, bu grubun diğer serilere kıyasla daha yüksek hücresel etkinlik sergilediğini ortaya koymuştur. Aril halkasındaki CF_3 gruplarının farklı serilerde tutarlı biçimde daha düşük IC_{50} değerleriyle ilişkilendirilmesi, bu yapısal unsurun ileride yürütülecek tasarım çalışmalarında dikkate alınmasını destekleyen bir bulgu niteliğindedir. Bununla birlikte kinazolin ve tiyoüre grupları arasındaki süstitüentin değiştirilmesiyle etkinlikte gözlenen belirgin farklılıklar, molekülün kiral merkez çevresindeki yapısal özelliklerinin de biyolojik yanıtı şekillendirmede rol oynayabileceğini göstermektedir.

Çalışmada en güçlü antiproliferatif etkiyi sergileyen 8a2 bileşiğinin MCF-7 hücrelerinde apoptotik hücre oranını doz bağımlı olarak artırması, bu bileşiğin hücre canlılığındaki azalmaya apoptoz aracılığıyla katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir. Mikroskobik incelemelerde gözlenen hücre kaybı ve morfolojik bozulmalar da hücresel canlılık verileriyle uyumlu bir tablo çizmektedir. Bununla birlikte mevcut bulgular, 8a2'nin kesin etki mekanizmasını tam olarak aydınlatmak için yeterli değildir. Bileşiğin moleküler hedeflerinin ve apoptozla ilişkili sinyal yolaklarının belirlenmesi, buna ek olarak normal hücre modellerindeki sitotoksik profilinin incelenmesi, elde edilen sonuçların biyolojik açıdan daha sağlam bir zemine oturtulmasını sağlayacaktır. Bu yöndeki çalışmaların gerçekleştirilmesi, özellikle 8a2 olmak üzere aktif bileşiklerin yeni antikanser adayları olarak konumlandırılması açısından atılması gereken bir sonraki adımı oluşturmaktadır.

Sonuç olarak: Kinazolin ve tiyoüre farmakoforlarını içeren yeni kiral tiyoüre türevleri başarıyla sentezlenmiş ve yapısal olarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki antiproliferatif aktiviteleri belirlenmiş; özellikle **8a serisinin** diğer serilere göre daha yüksek aktivite gösterdiği ortaya konmuştur. **8a2 bileşiği**, 0,65 μM IC_{50} değeri ile MCF-7 hücrelerine karşı en güçlü antiproliferatif aktiviteyi göstermiştir. 8a2 bileşiğinin hücre morfolojisinde oluşturduğu değişiklikler ve konsantrasyona bağlı artan apoptotik hücre oranı, antiproliferatif etkisini desteklemiştir. Elde edilen bulgular, kinazolin-temelli kiral tiyoürelerin antikanser araştırmaları açısından araştırılmaya değer aday yapılar olduğunu göstermiştir.

6. ÖNERİLER

- Başta **8a2** olmak üzere **yüksek aktivite gösteren bileşiklerin**, farklı meme kanseri hücre hatlarında değerlendirilmesi önem arz etmektedir.
- Bileşiklerin kanser hücrelerine yönelik seçiciliğinin belirlenmesi amacıyla uygun **normal meme ve karaciğer hücre modellerinin** çalışmalara dahil edilmesi gerekmektedir.
- 8a2 bileşiğinin etki mekanizmasının aydınlatılması amacıyla kaspaz aktivitesi, Bax/Bcl-2 oranı, mitokondriyal membran potansiyeli ve apoptozla ilişkili gen/protein ekspresyonlarının incelenmesi faydalı olacaktır.
- Farklı elektron çekici ve elektron verici süstitüentler içeren yeni türevlerin sentezlenerek **yapı-aktivite ilişkilerinin (SAR)** daha kapsamlı şekilde araştırılması gerekmektedir.
- Kinazolin–tiyoüre arasındaki bağlayıcı kısmın ve kiral merkezin konfigürasyonunun değiştirilerek biyolojik aktivite üzerindeki etkilerinin incelenmesi önerilmektedir.
- Aktif bileşiklerin ileri aşamada **in vivo etkinlik, toksisite, çözünürlük, metabolik kararlılık, biyoyararlanım ve farmakokinetik özellikler** açısından değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Abbas, S. Y., El-Sharief, M. A. M. S., Basyouni, W. M., Fakhr, I. M. I., & El-Gammal, E. W. (2013). Thiourea derivatives incorporating a hippuric acid moiety: Synthesis and evaluation of antibacterial and antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 64, 111-120. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.002>
- Akkol, E. K., Genc, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sanchez, E., & Capasso, R. (2020). Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers*, 12(7), Article 1959. <https://doi.org/10.3390/cancers12071959>
- Alibert, C., Goud, B., & Manneville, J. B. (2017). Are cancer cells really softer than normal cells? *Biology of the Cell*, 109(5), 167-189. <https://doi.org/10.1111/boc.201600078>
- Allen, T. M. (2002). Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 2(10), 750-763. <https://doi.org/10.1038/nrc903>
- Alsaid, M. S., Ghorab, M. M., Alqasoumi, S. I., & Abdel-Kader, M. S. (2016). Semisynthesis of some novel thiourea and carbamimidothioic acid derivatives using natural alkaloid L-norephedrine and their anticancer activity. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 42(5), 567-573. <https://doi.org/10.1134/S1068162016050113>
- Andre, F., & Cortes, J. (2015). Rationale for targeting fibroblast growth factor receptor signaling in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 150(1), 1-8. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3301-y>
- Asadi, M., Taghizadeh, S., Kaviani, E., Vakili, O., Taheri-Anganeh, M., Tahamtan, M., & Savardashtaki, A. (2022). Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(4), 1634-1645. <https://doi.org/10.1002/bab.2233>
- Babu, K. N., Roy, A., Singh, M., & Bisai, A. (2018). Thiourea-catalyzed enantioselective malonate addition onto 3-sulfonyl-3'-indolyl-2-oxindoles: Formal total syntheses of (-)-chimonanthine, (-)-folicanthine, and (+)-calycanthine. *Organic Letters*, 20(20), 6327-6331. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b02327>
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193-199. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
- Bassi, P., & Sacco, E. (2009). Cancer and aging: The molecular pathways. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 27(6), 620-627. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2009.07.013>

- Berridge, M. V., Herst, P. M., & Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11, 127-152. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(05)11004-7)
- Bilyi, A. K., Antypenko, L. M., Ivchuk, V. V., Kamyshnyi, O. M., Polishchuk, N. M., & Kovalenko, S. I. (2015). 2-Heteroaryl-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-5(6H)-thiones and their S-substituted derivatives: Synthesis, spectroscopic data, and biological activity. *ChemPlusChem*, 80(6), 980-989. <https://doi.org/10.1002/cplu.201402377>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Burrell, R. A., McGranahan, N., Bartek, J., & Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature*, 501(7467), 338-345. <https://doi.org/10.1038/nature12625>
- Cakici, M., Catir, M., Karabuga, S., Ulukanli, S., & Kilic, H. (2011). Synthesis and asymmetric catalytic activity of (1S,1'S)-4,4'-biquinazoline-based primary amines. *Tetrahedron: Asymmetry*, 22(3), 300-308. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2011.01.009>
- Calvaruso, M., Pucci, G., Musso, R., Bravata, V., Cammarata, F. P., Russo, G., Forte, G. I., & Minafra, L. (2019). Nutraceutical compounds as sensitizers for cancer treatment in radiation therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), Article 5267. <https://doi.org/10.3390/ijms20215267>
- Casciato, D. A. (2012). *Klinik Onkoloji El Kitabı* (6. Baskı). Güneş Tıp Kitabevleri.
- Chelucci, G. (2010). Hydrodehalogenation of halogenated pyridines and quinolines. *Chemical Reviews*, 110(7), 4301-4346. <https://doi.org/10.1021/cr900386j>
- Chen, F., Huang, S., Zhang, H., Liu, F., & Peng, Y. (2008). Proline-based dipeptides with two amide units as organocatalyst for the asymmetric aldol reaction of cyclohexanone with aldehydes. *Tetrahedron*, 64(41), 9585-9591. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.07.051>
- Chen, M. H., Chen, Z., Song, B. A., Bhadury, P. S., Yang, S., Cai, X. J., Hu, D. Y., Xue, W., & Zeng, S. (2009). Synthesis and antiviral activities of chiral thiourea derivatives containing an α -aminophosphonate moiety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1383-1388. <https://doi.org/10.1021/jf803215t>
- Cooper, G. M. (2000). *The cell: A molecular approach* (2nd ed.). Sinauer Associates. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>

- Cragg, G. M., & Pezzuto, J. M. (2016). Natural products as a vital source for the discovery of cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Medical Principles and Practice*, 25(Suppl. 2), 41-59. <https://doi.org/10.1159/000443404>
- Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: Implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49-63. <https://doi.org/10.1038/nrm3722>
- Çatır, M., Altay, A., Çakıcı, M., & Doğan, B. (2025). *Kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve meme kanseri hücre hatlarında antikanser etkisinin araştırılması* (Proje No. 223Z239). Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK).
- Davis, M. E., Chen, Z. G., & Shin, D. M. (2008). Nanoparticle therapeutics: An emerging treatment modality for cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(9), 771-782. <https://doi.org/10.1038/nrd2614>
- Doyle, A. G., & Jacobsen, E. N. (2007). Small-molecule H-bond donors in asymmetric catalysis. *Chemical Reviews*, 107(12), 5713-5743. <https://doi.org/10.1021/cr068373r>
- El Hassani, I. A., Brandan, S. A., Altay, A., Yeniçeri, E., Alsalme, A., Oulmidi, A., & Ansar, M. (2025). 5-methyl-N'-(thiophen-2-ylmethylene)-1H-pyrazole-3-carbohydrazide as potent anticancer agent: Synthesis, spectroscopic characterization, anticancer activity and DFT studies. *Journal of Molecular Structure*, 1324, Article 140919. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140919>
- Ellenbroek, S. I. J., & van Rheenen, J. (2014). Imaging hallmarks of cancer in living mice. *Nature Reviews Cancer*, 14(6), 406-418. <https://doi.org/10.1038/nrc3742>
- Fekner, T., Müller-Bunz, H., & Guiry, P. J. (2006). Synthesis, resolution, and application of a new family of chiral primary amines. *Organic Letters*, 8(22), 5109-5112. <https://doi.org/10.1021/ol062023>
- Ghorab, M. M., Alsaïd, M. S., El-Gaby, M. S. A., Elaasser, M. M., & Nissan, Y. M. (2017). Antimicrobial and anticancer activity of some novel thiourea derivatives. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 192(11), 1163-1170. <https://doi.org/10.1080/10426507.2017.1336049>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hernandez-Aya, L. F., & Gonzalez-Angulo, A. M. (2013). Adjuvant systemic therapies in breast cancer. *Surgical Clinics of North America*, 93(2), 473-491. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2012.12.002>

- Hong, J. M., Suh, S. S., Kim, T. K., Kim, J. E., Han, S. J., Youn, U. J., Yim, J. H., & Kim, I. C. (2018). Anti-cancer activity of lobaric acid and lobarstin extracted from the Antarctic lichen *Stereocaulon alpinum*. *Molecules*, 23(3), Article 658. <https://doi.org/10.3390/molecules23030658>
- Hornsby, P. J. (2011). Cellular aging and cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 79(2), 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2010.05.008>
- Hu, H., Lin, C., Ao, M., Ji, Y., Tang, B., Zhou, X., Fang, M., Zeng, J., & Wu, Z. (2017). Synthesis and biological evaluation of 1-(2-(adamantane-1-yl)-1H-indol-5-yl)-3-substituted urea/thiourea derivatives as anticancer agents. *RSC Advances*, 7(81), 51640-51651. <https://doi.org/10.1039/C7RA08316D>
- Huang, R. Z., Zhang, B., Huang, X. C., Liang, G. B., Qin, J. M., Pan, Y. M., Liao, Z. X., & Wang, H. S. (2017). Synthesis and biological evaluation of terminal functionalized thiourea-containing dipeptides as antitumor agents. *RSC Advances*, 7(15), 8866-8878. <https://doi.org/10.1039/C6RA25590F>
- Huang, X., Huang, R., Liao, Z., Pan, Y., Gou, S., & Wang, H. (2016). Synthesis and pharmacological evaluation of dehydroabiatic acid thiourea derivatives containing bisphosphonate moiety as an inducer of apoptosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 108, 381-391. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.12.008>
- Hynes, N. E., & Lane, H. A. (2005). ERBB receptors and cancer: The complexity of targeted inhibitors. *Nature Reviews Cancer*, 5(5), 341-354. <https://doi.org/10.1038/nrc1609>
- Kim, W., Lee, S., Seo, D., Kim, D., Kim, K., Kim, E., Kang, J., Seong, K. M., Youn, H., & Youn, B. (2019). Cellular stress responses in radiotherapy. *Cells*, 8(9), Article 1105. <https://doi.org/10.3390/cells8091105>
- Klein, C. A. (2013). Selection and adaptation during metastatic cancer progression. *Nature*, 501(7467), 365-372. <https://doi.org/10.1038/nature12628>
- Lazebnik, Y. (2010). What are the hallmarks of cancer? *Nature Reviews Cancer*, 10(4), 232-233. <https://doi.org/10.1038/nrc2827>
- Levenson, A. S., & Jordan, V. C. (1997). MCF-7: The first hormone-responsive breast cancer cell line. *Cancer Research*, 57(15), 3071-3078. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9242427/>
- Mierke, C. T. (2013). Physical break-down of the classical view on cancer cell invasion and metastasis. *European Journal of Cell Biology*, 92(3), 89-104. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2012.11.005>

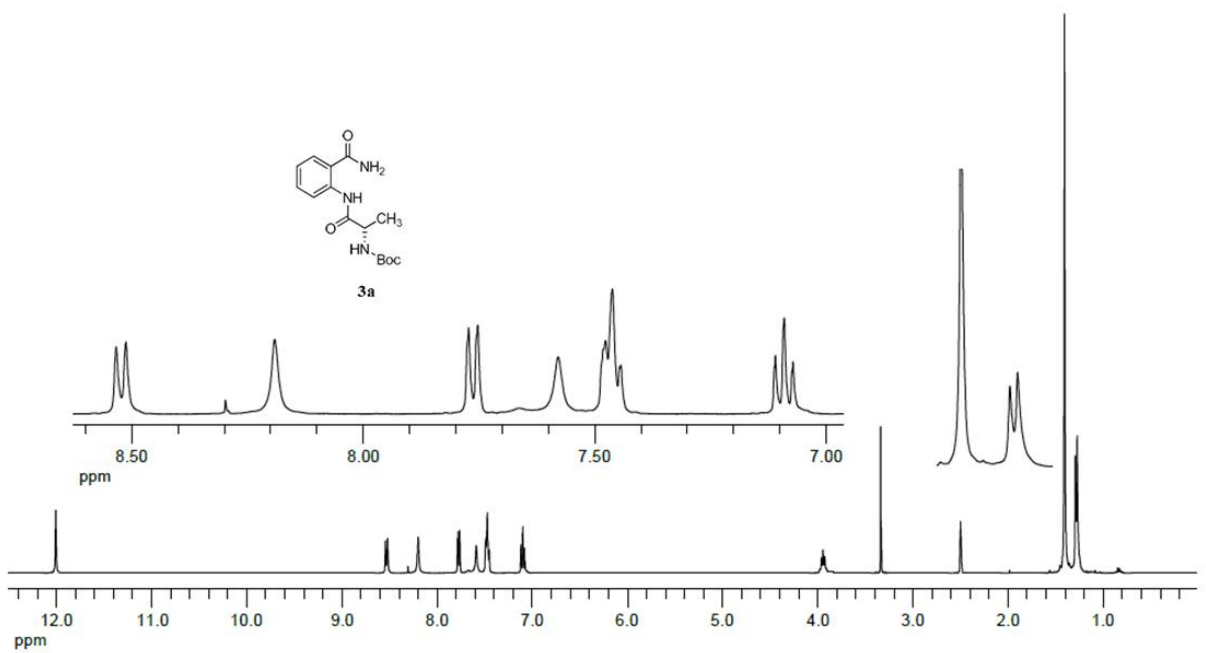
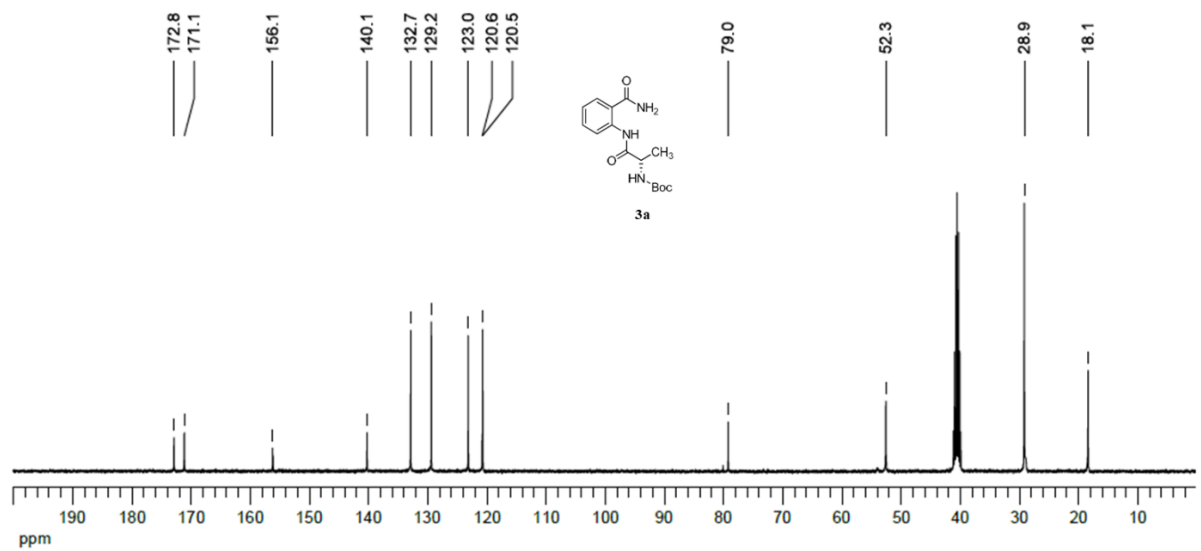
- Moghaddam, G., Ebrahimi, S. A., Rahbar-Roshandel, N., & Foroumadi, A. (2012). Antiproliferative activity of flavonoids: Influence of the sequential methoxylation state of the flavonoid structure. *Phytotherapy Research*, 26(7), 1023-1028. <https://doi.org/10.1002/ptr.3678>
- Mondal, S., Bandyopadhyay, S., Ghosh, M. K., Mukhopadhyay, S., Roy, S., & Mandal, C. (2012). Natural products: Promising resources for cancer drug discovery. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12(1), 49-75. <https://doi.org/10.2174/187152012798764697>
- Mushtaque, M., Jahan, M., Ali, M., Khan, M. S., Khan, M. S., Sahay, P., & Kesarwani, A. (2016). Synthesis, characterization, molecular docking, DNA binding, cytotoxicity and DFT studies of 1-(4-methoxyphenyl)-3-(pyridine-3-ylmethyl)thiourea. *Journal of Molecular Structure*, 1122, 164-174. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.074>
- National Cancer Institute. (2021). *What is cancer?* U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- Oki, K., Plonczynski, M. W., Gomez-Sanchez, E. P., & Gomez-Sanchez, C. E. (2016). YPEL4 modulates HAC15 adrenal cell proliferation and is associated with tumor diameter. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 434, 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.06.015>
- Otto, T., & Sicinski, P. (2017). Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 17(2), 93-115. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.138>
- Parsons, B. L. (2018). Multiclonal tumor origin: Evidence and implications. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 777, 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2018.05.001>
- Parsons, B. L., & Myers, M. B. (2013). KRAS mutant tumor subpopulations can subvert durable responses to personalized cancer treatments. *Personalized Medicine*, 10(2), 191-199. <https://doi.org/10.2217/pme.12.115>
- Pawlak, K. J., & Wiebe, J. P. (2007). Regulation of estrogen receptor (ER) levels in MCF-7 cells by progesterone metabolites. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 107(3-5), 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2007.03.041>
- Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., & Langer, R. (2007). Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnology*, 2(12), 751-760. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.387>

- Pucci, C., Martinelli, C., & Ciofani, G. (2019). Innovative approaches for cancer treatment: Current perspectives and new challenges. *Ecancermedicalscience*, 13, Article 961. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2019.961>
- Rohini, G., Haribabu, J., Aneesrahmana, K. N., Bhuvanesh, N. S. P., Ramaiah, K., Karvembu, R., & Sreekanth, A. (2018). Half-sandwich Ru(II)(η^6 -p-cymene) complexes bearing N-dibenzosuberonyl appended thiourea for catalytic transfer hydrogenation and in vitro anticancer activity. *Polyhedron*, 152, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.06.035>
- Rother, J., Nöding, H., Mey, I., & Janshoff, A. (2014). Atomic force microscopy-based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malignant and benign cell lines. *Open Biology*, 4(5), Article 140046. <https://doi.org/10.1098/rsob.140046>
- Rouzi, K., Altay, A., Bouatia, M., Yeniçeri, E., Islam, M. S., Oulmidi, A., El Karbane, M., & Karrouchi, K. (2024). Novel isoniazid-hydrazone derivatives induce cell growth inhibition, cell cycle arrest and apoptosis via mitochondria-dependent caspase activation and PI3K/AKT inhibition. *Bioorganic Chemistry*, 150, Article 107563. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107563>
- Schirrmacher, V. (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *International Journal of Oncology*, 54(2), 407-419. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4661>
- Scholz, D., Cai, W. J., & Schaper, W. (2001). Arteriogenesis, a new concept of vascular adaptation in occlusive disease. *Angiogenesis*, 4(4), 247-257. <https://doi.org/10.1023/A:1016094004084>
- Shahar, N., & Larisch, S. (2020). Inhibiting the inhibitors: Targeting anti-apoptotic proteins in cancer and therapy resistance. *Drug Resistance Updates*, 52, Article 100712. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2020.100712>
- Shewach, D. S., & Kuchta, R. D. (2009). Introduction to cancer chemotherapeutics. *Chemical Reviews*, 109(7), 2859-2861. <https://doi.org/10.1021/cr900208x>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2021). Cancer statistics, 2021. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(1), 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21654>
- Sinha, R., Kim, G. J., Nie, S., & Shin, D. M. (2006). Nanotechnology in cancer therapeutics: Bioconjugated nanoparticles for drug delivery. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(8), 1909-1917. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0141>

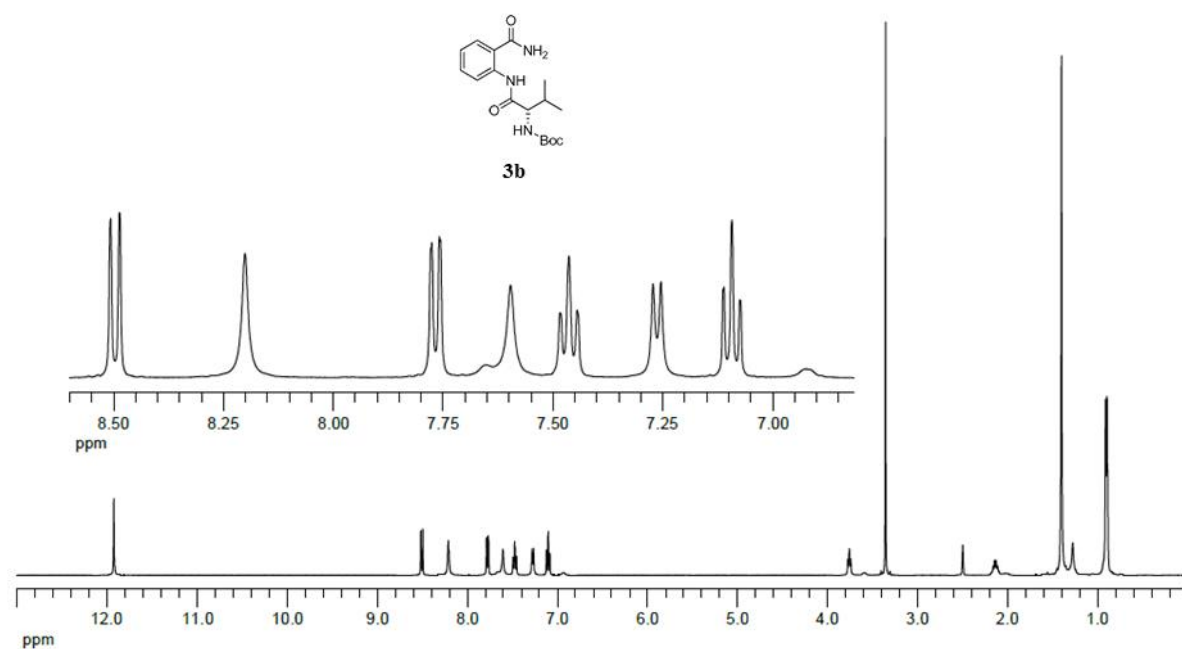
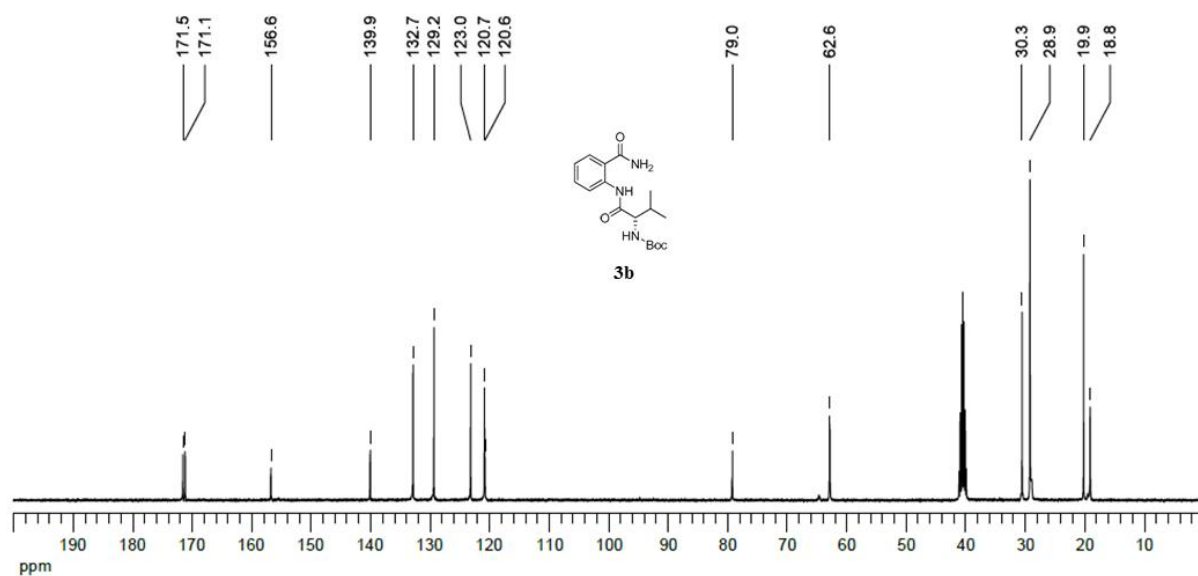
- Soares, G. A., Oliveira, R. B., Andrade, S. F., Alves, R. J., Zani, C. L., & Souza-Fagundes, E. M. (2010). Synthesis and in vitro cytotoxic activity of compounds with pro-apoptotic potential. *Molecules*, 15(1), 12-26. <https://doi.org/10.3390/molecules15010012>
- Subik, K., Lee, J. F., Baxter, L., Strzepek, T., Costello, D., Crowley, P., Xing, L., Hung, M. C., Bonfiglio, T., Hicks, D. G., & Tang, P. (2010). The expression patterns of ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR, Ki-67 and AR by immunohistochemical analysis in breast cancer cell lines. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, 4, 35-41. <https://doi.org/10.1177/117822341000400004>
- Sudhakar, A. (2009). History of cancer, ancient and modern treatment methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 1(2), 1-4. <https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tatar, E., Karakus, S., Kucukguzel, S. G., Okullu, S. O., Unubol, N., Kocagoz, T., De Clercq, E., Andrei, G., Snoeck, R., Pannecouque, C., Kalayci, S., Sahin, F., Sriram, D., Yogeeswari, P., & Kucukguzel, I. (2016). Design, synthesis, and molecular docking studies of a conjugated-thiadiazole thiourea scaffold as antituberculosis agents. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 39(4), 502-515. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00632>
- Tong, C. W. S., Wu, M., Cho, W. C. S., & To, K. K. W. (2018). Recent advances in the treatment of breast cancer. *Frontiers in Oncology*, 8, Article 227. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00227>
- Vera-Badillo, F. E., Al-Mubarak, M., Templeton, A. J., & Amir, E. (2013). Benefit and harms of new anti-cancer drugs. *Current Oncology Reports*, 15(4), 270-275. <https://doi.org/10.1007/s11912-013-0303-y>
- Verma, M. (2012). Personalized medicine and cancer. *Journal of Personalized Medicine*, 2(1), 1-14. <https://doi.org/10.3390/jpm2010001>
- Viallard, C., & Larrivée, B. (2017). Tumor angiogenesis and vascular normalization: Alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*, 20(4), 409-426. <https://doi.org/10.1007/s10456-017-9562-9>
- Walensky, L. D. (2019). Targeting BAX to drug death directly. *Nature Chemical Biology*, 15(7), 657-665. <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0305-6>

- Wang, R., Sun, D. Z., Song, C. Q., Xu, Y. M., Liu, W., Liu, Z., & Dong, X. S. (2018). Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit α (eIF2 α) inhibitor salubrinal attenuates paraquat-induced human lung epithelial-like A549 cell apoptosis by regulating the PERK-eIF2 α signaling pathway. *Toxicology in Vitro*, 46, 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.09.014>
- Wefel, J. S., & Schagen, S. B. (2012). Chemotherapy-related cognitive dysfunction. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 12(3), 267-275. <https://doi.org/10.1007/s11910-012-0264-9>
- World Health Organization. (2021). *Cancer*. <https://www.who.int/health-topics/cancer>
- Wolf, D. C., Cohen, S. M., Boobis, A. R., Dellarco, V. L., Fenner-Crisp, P. A., Moretto, A., Pastoor, T. P., Schoeny, R. S., Seed, J. G., & Doe, J. E. (2019). Chemical carcinogenicity revisited 1: A unified theory of carcinogenicity based on contemporary knowledge. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 103, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.01.021>
- Yadav, N., Kumar, P., Chhikara, A., & Chopra, M. (2017). Development of 1,3,4-oxadiazole thione based novel anticancer agents: Design, synthesis and in-vitro studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 721-730. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.110>
- Yan, G. E., & Efferth, T. (2018). Cell harvesting methods affect cellular integrity of adherent cells during apoptosis detection. *Anticancer Research*, 38(12), 6669-6672. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13034>
- Yu, L., Wei, J., & Liu, P. (2022). Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 85, 69-94. <https://doi.org/10.1016/j.semcancerbiol.2021.05.018>
- Zhao, Q., Li, S., Huang, K., Wang, R., & Zhang, X. (2013). A novel chiral bisphosphine-thiourea ligand for asymmetric hydrogenation of β,β -disubstituted nitroalkenes. *Organic Letters*, 15(16), 4014-4017. <https://doi.org/10.1021/ol401816y>

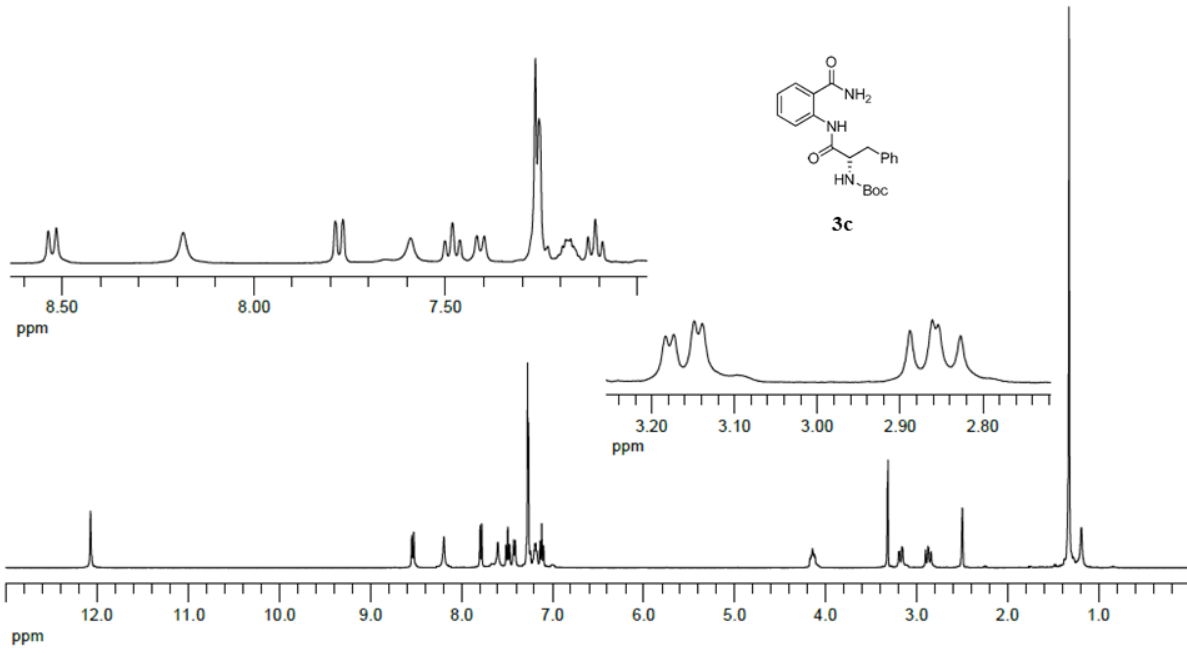
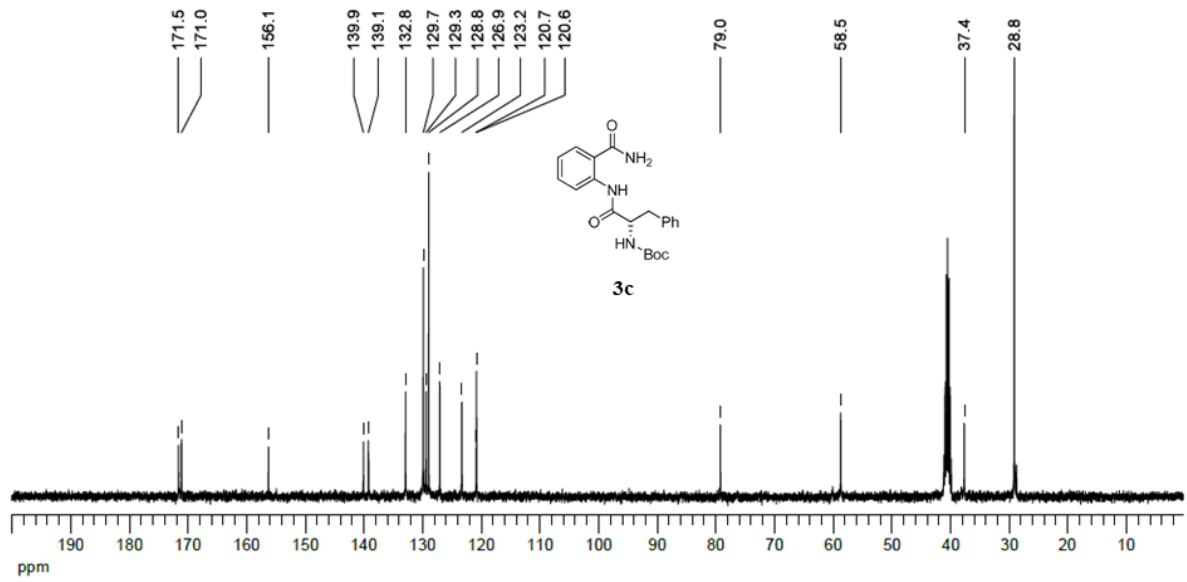
EKLER



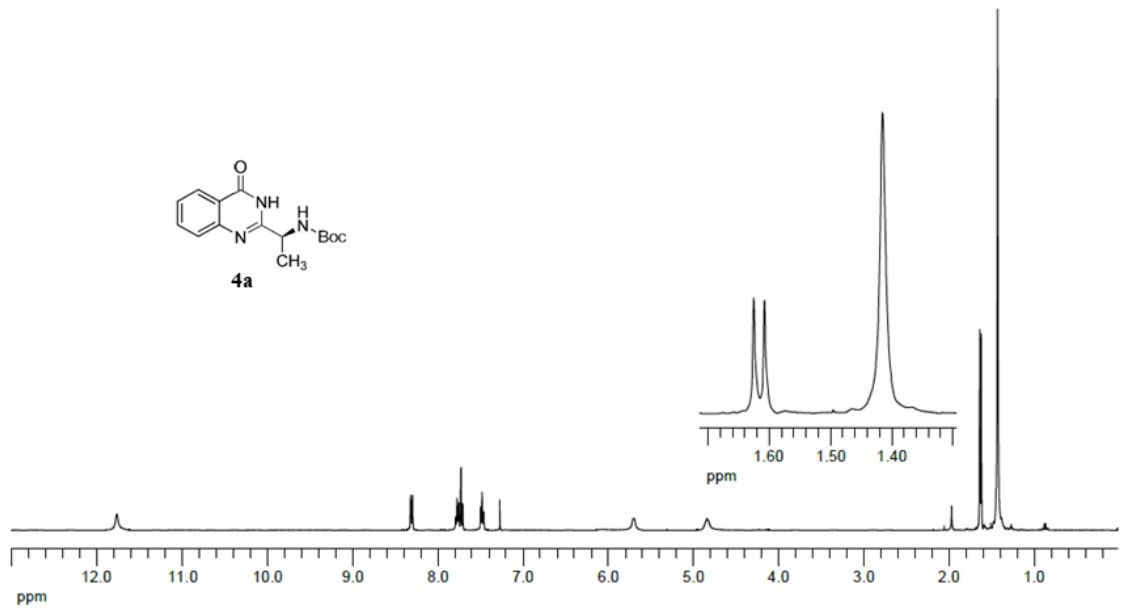
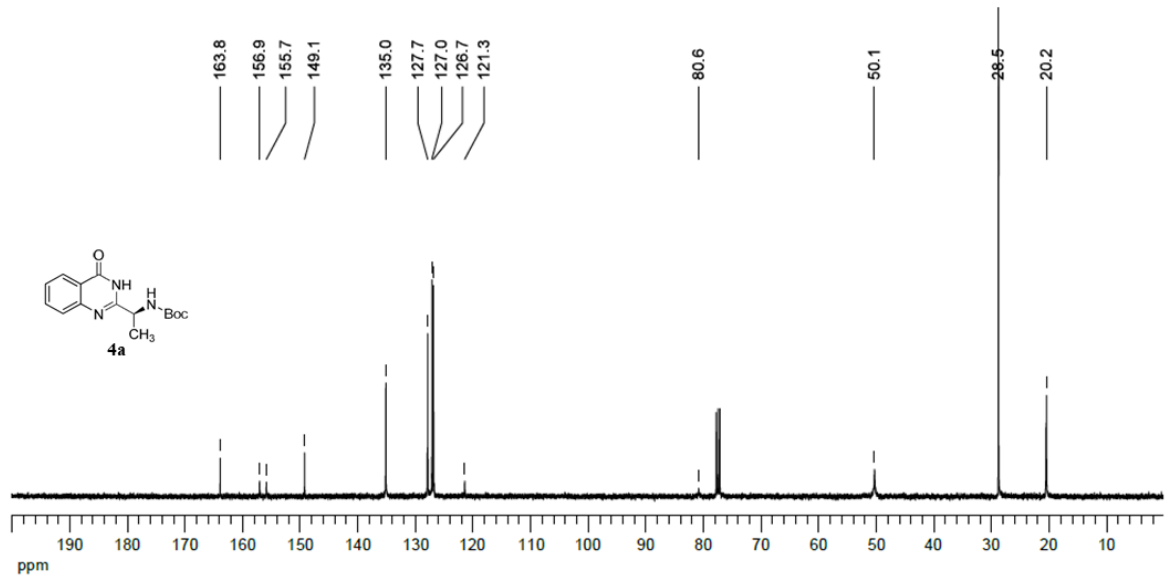
Ek 1. **3a**'nın ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d₆)



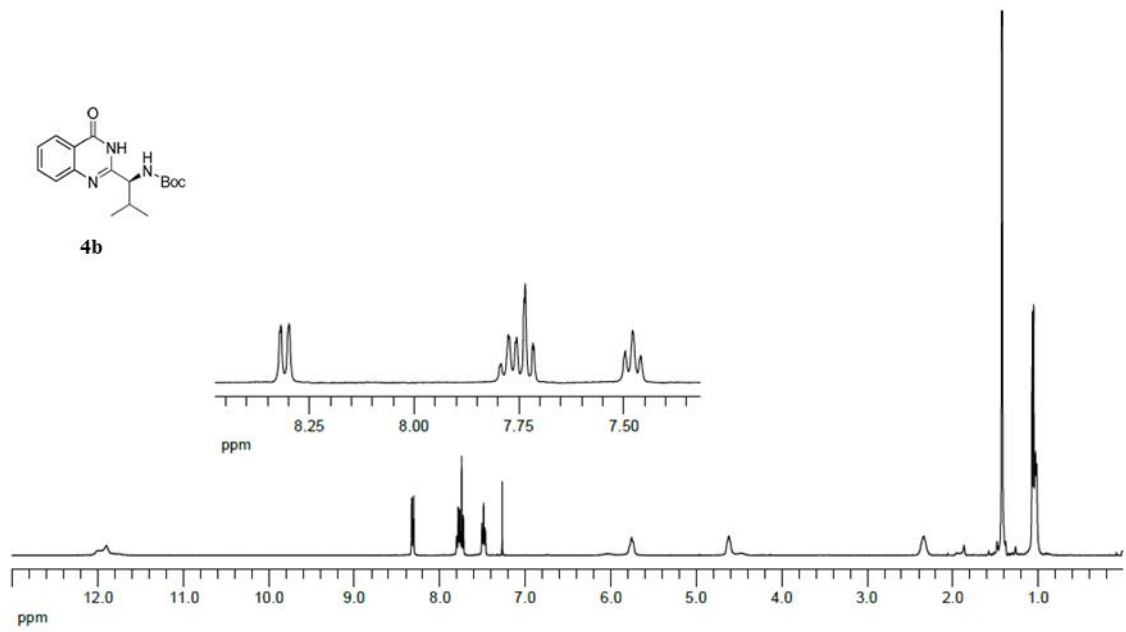
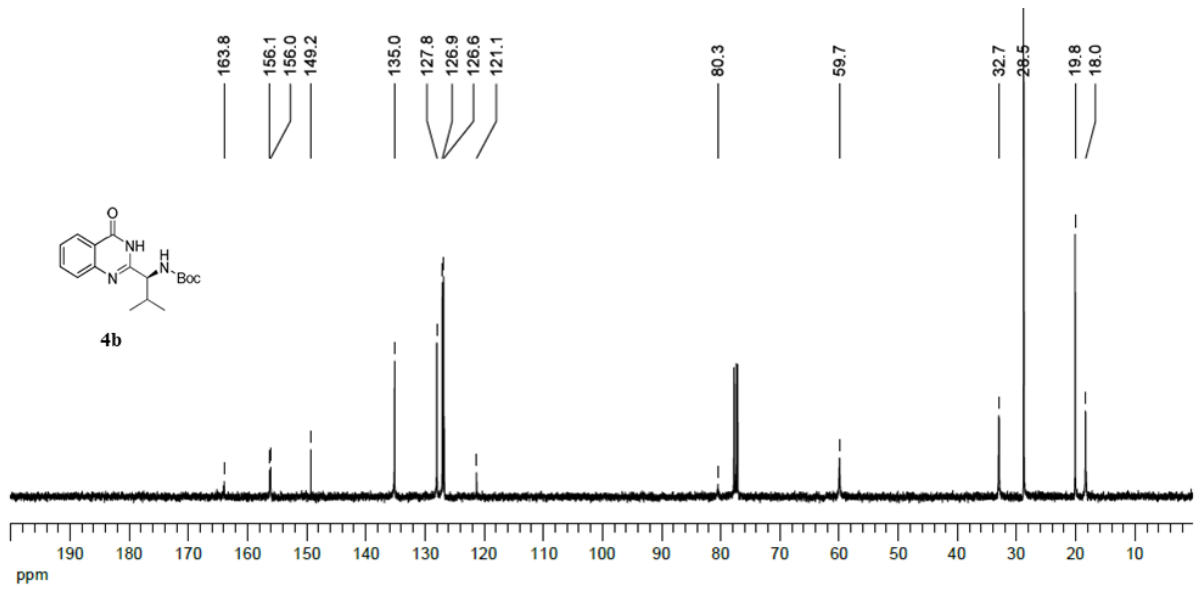
Ek 2. **3b**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d₆)



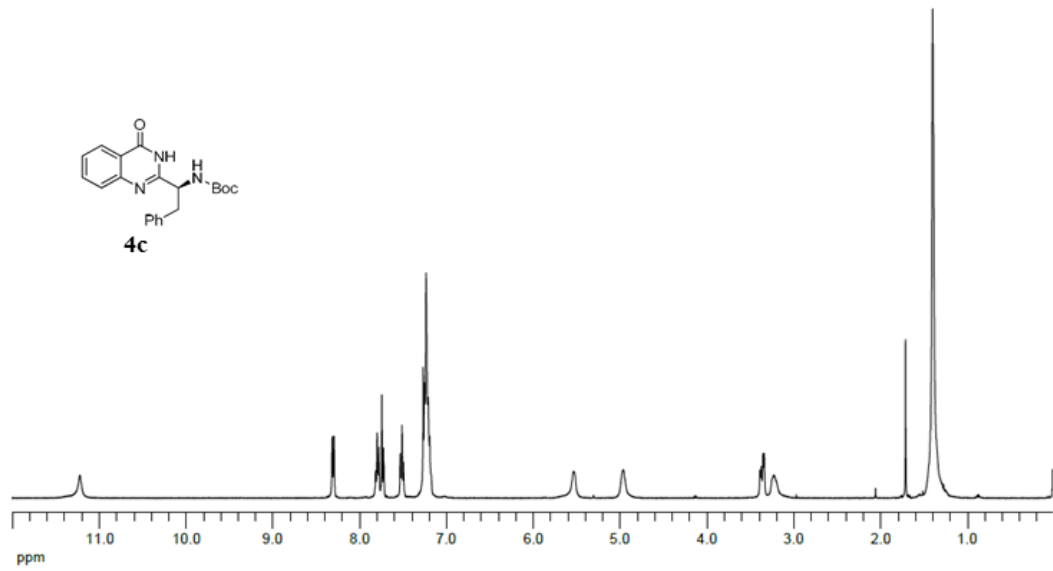
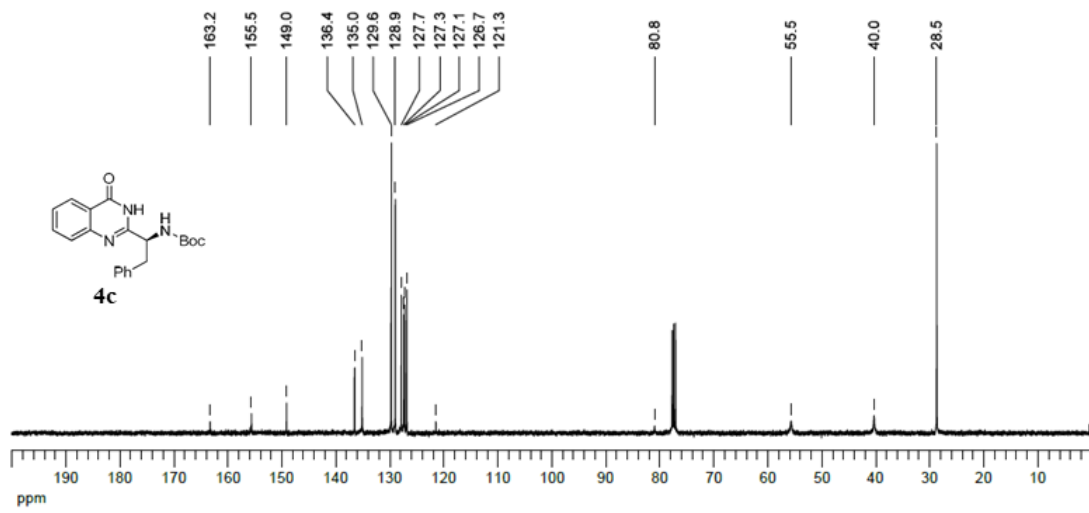
Ek 3. **3c**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (DMSO-d₆)



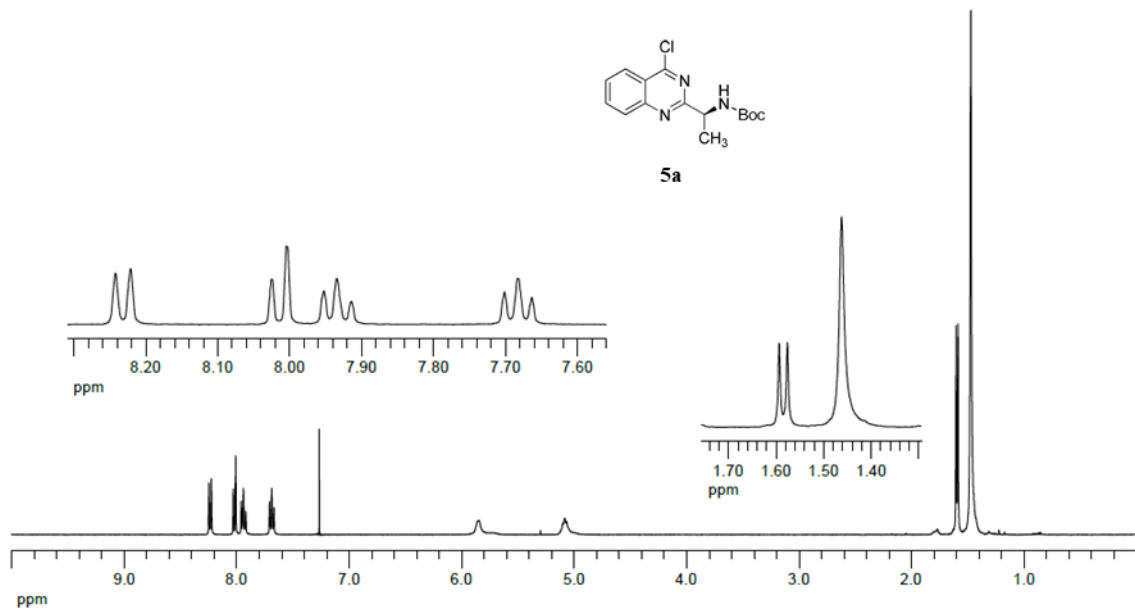
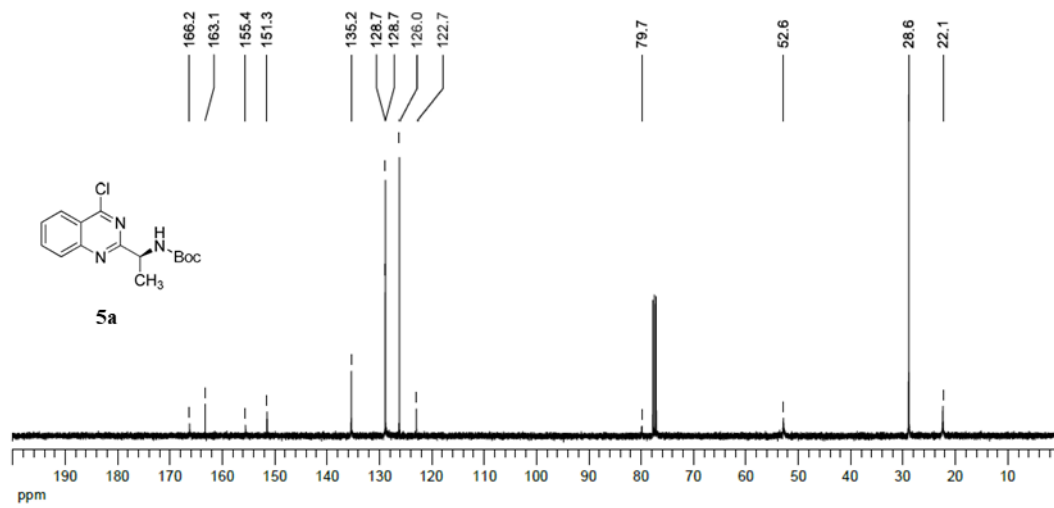
Ek 4. **4a**'nın ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



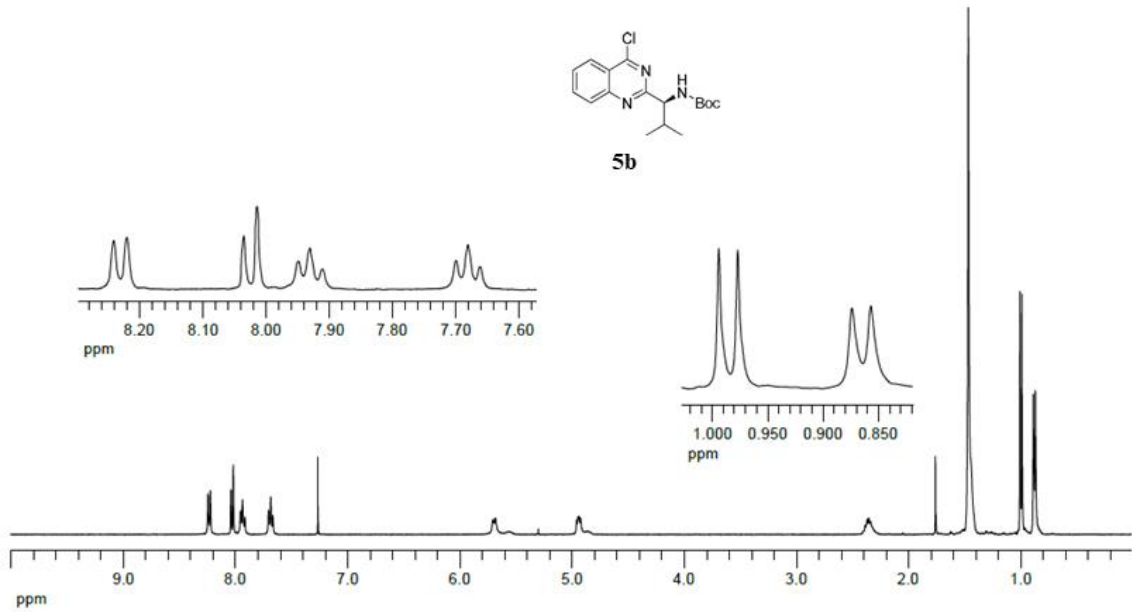
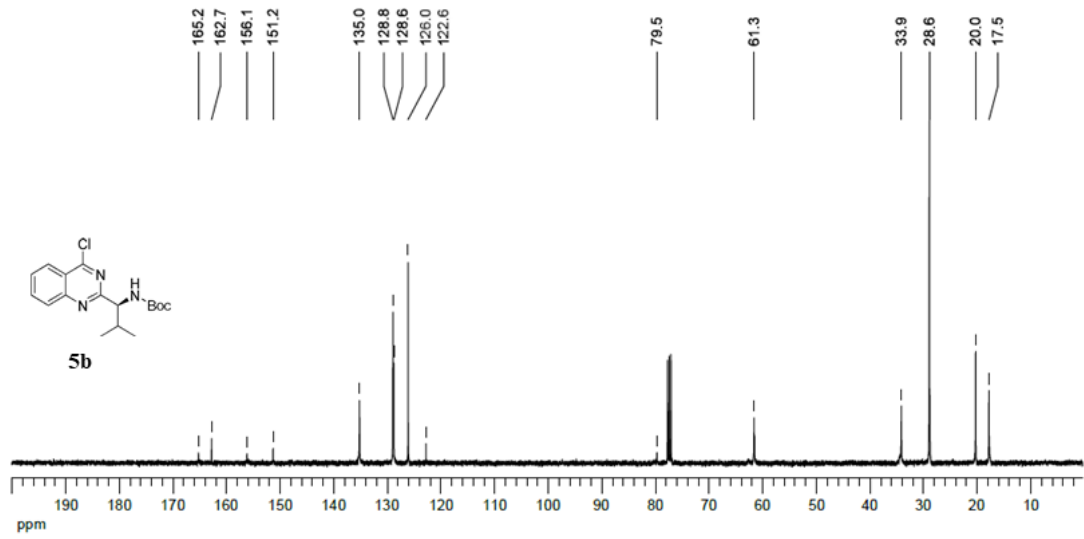
Ek 5. **4b**'nin ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



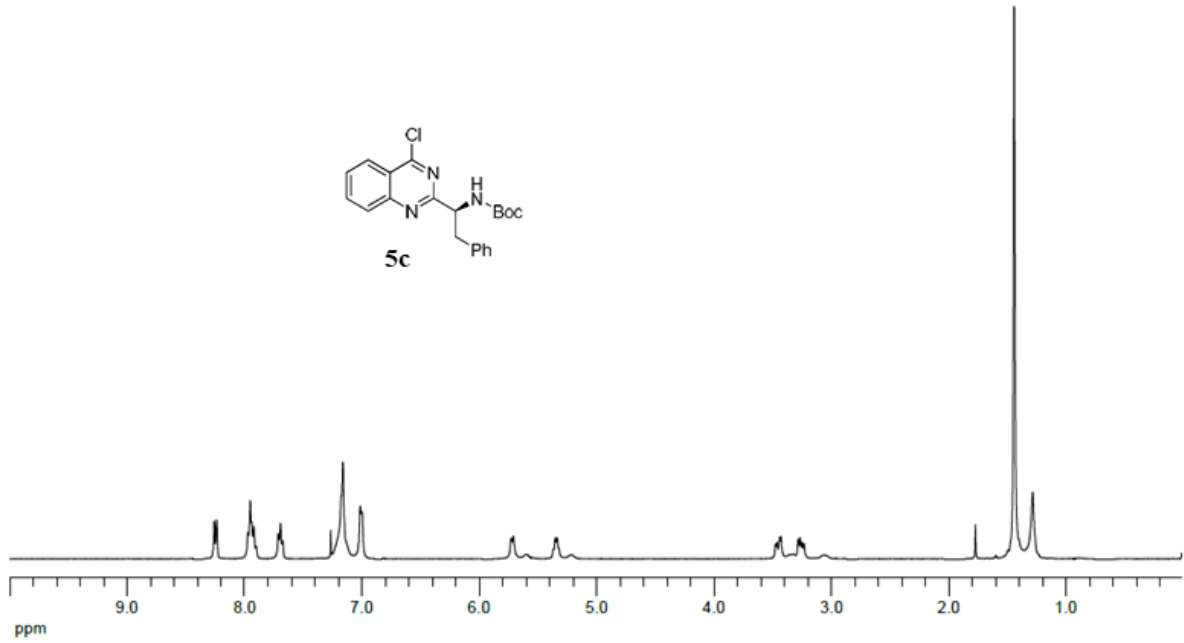
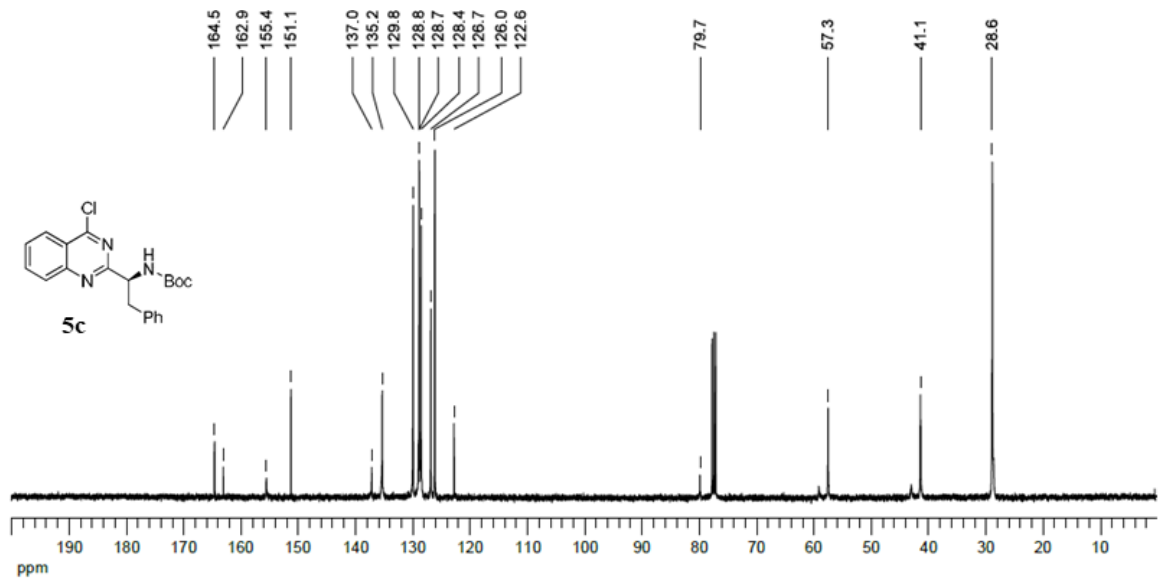
Ek 6. **4c**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



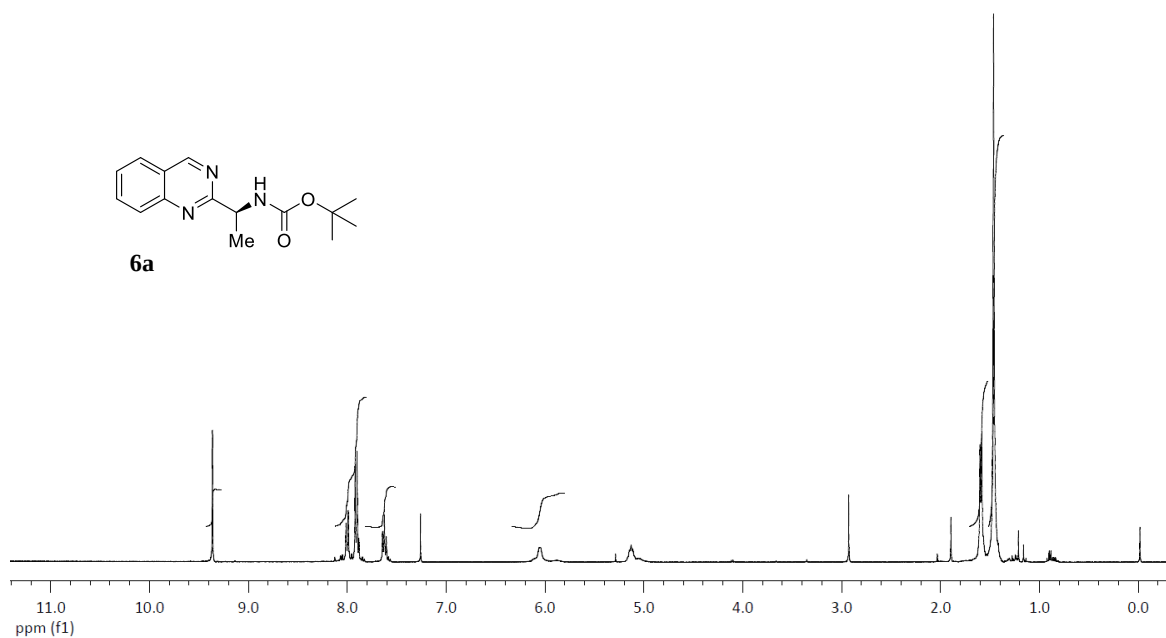
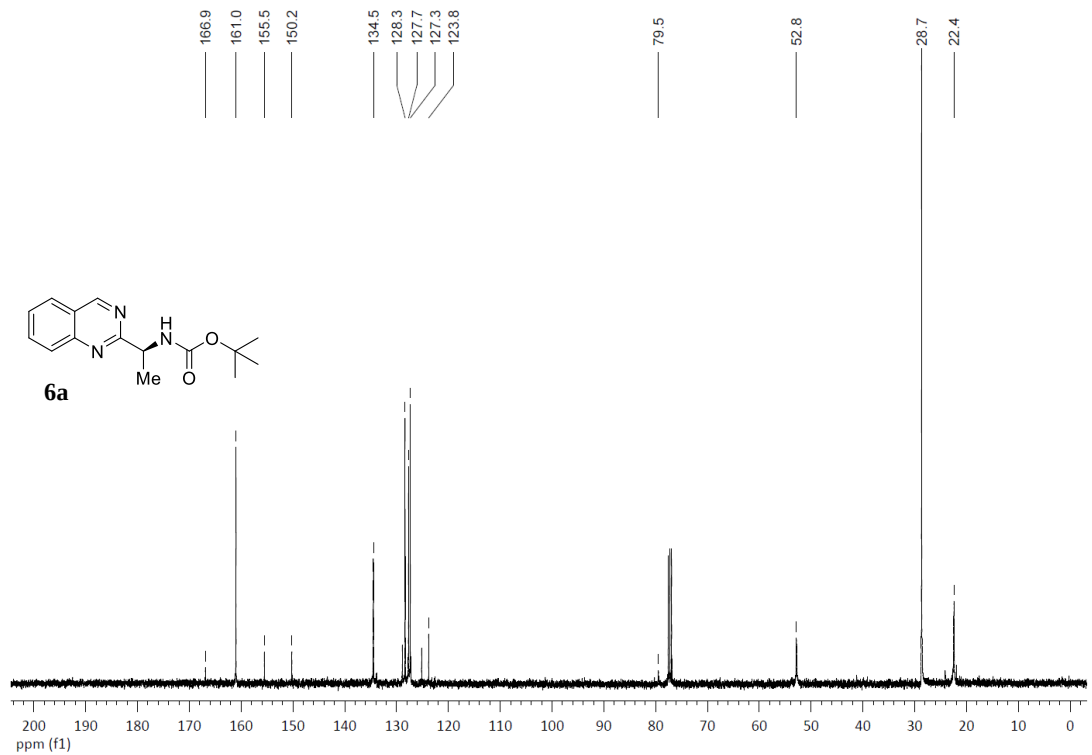
Ek 7. **5a**'nın ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



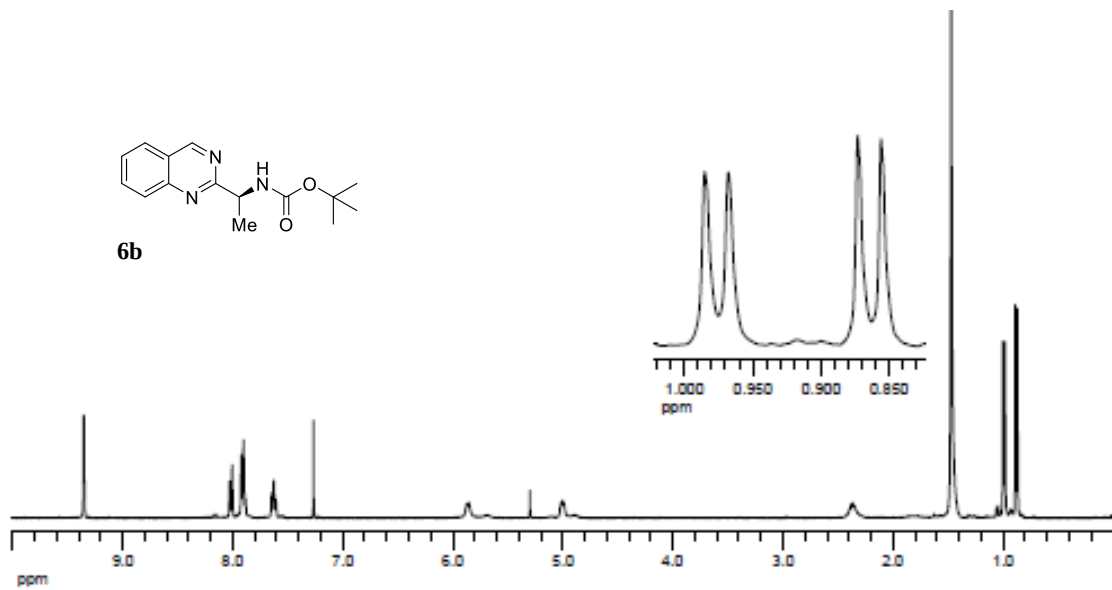
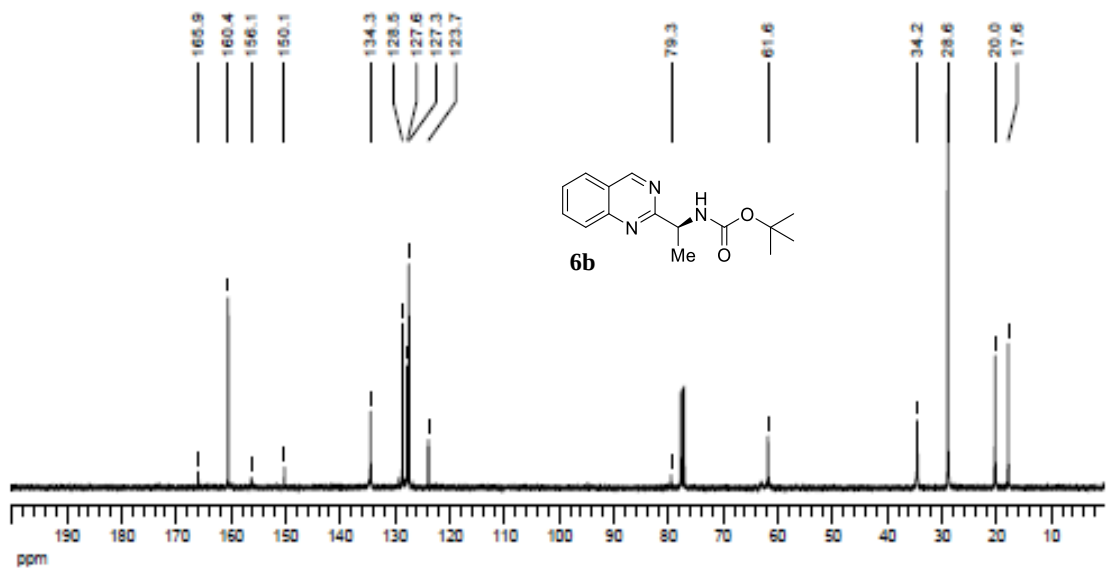
Ek 8. **5b**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



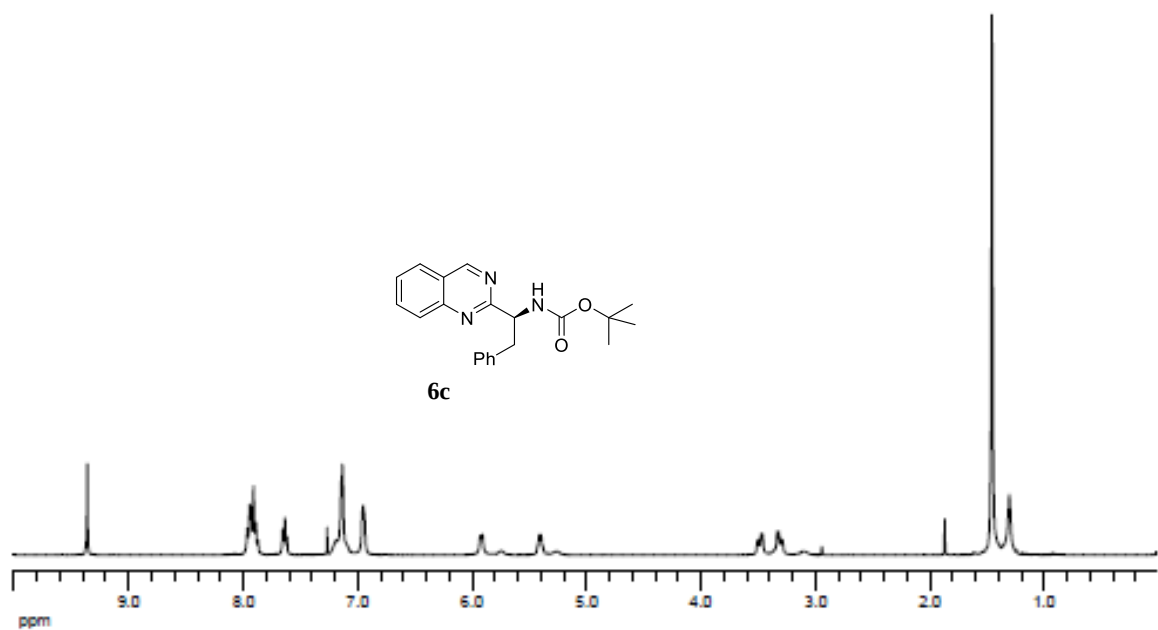
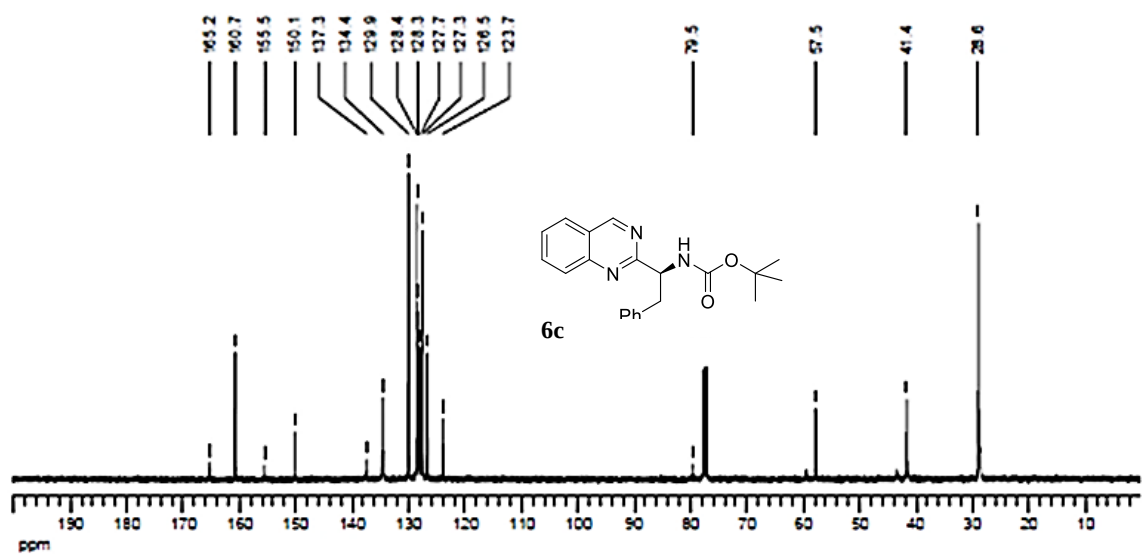
Ek 9. **5c**'nin ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



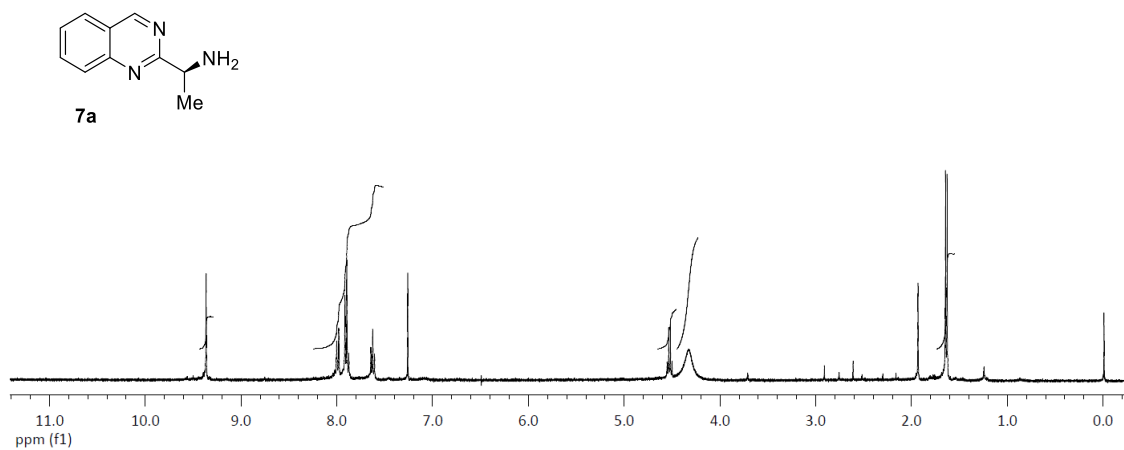
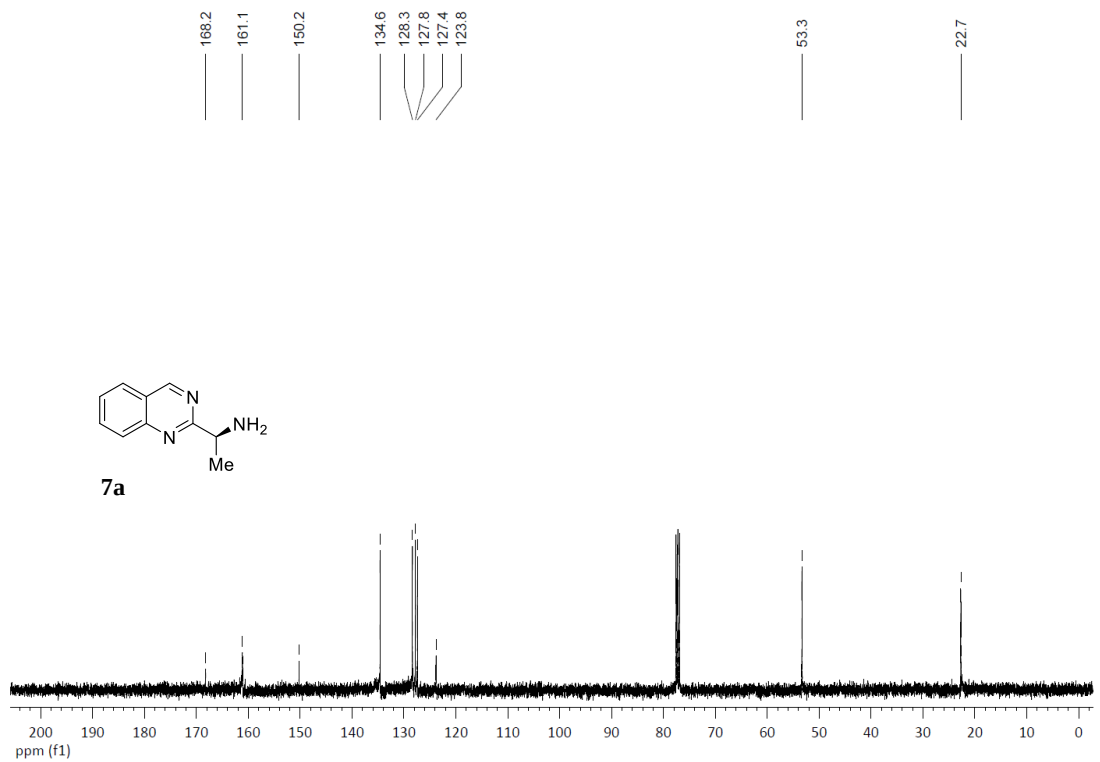
Ek 10. **6a**'nın ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



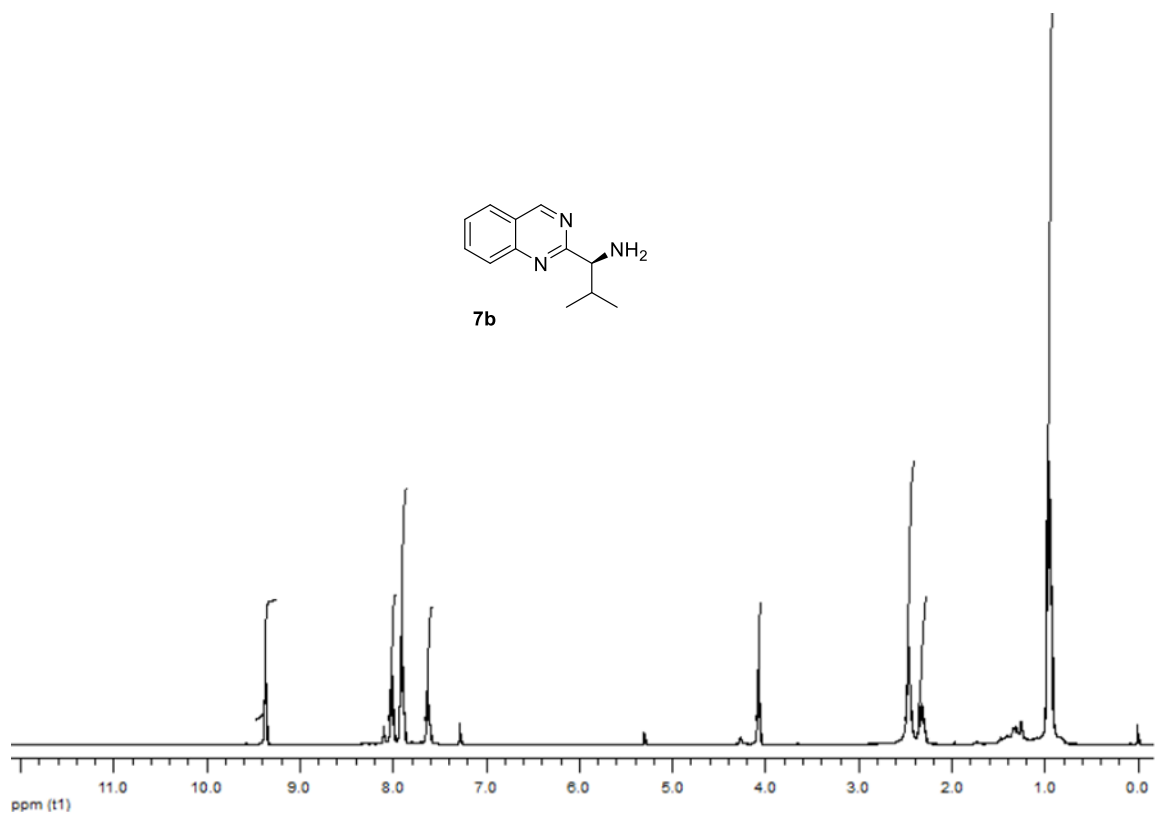
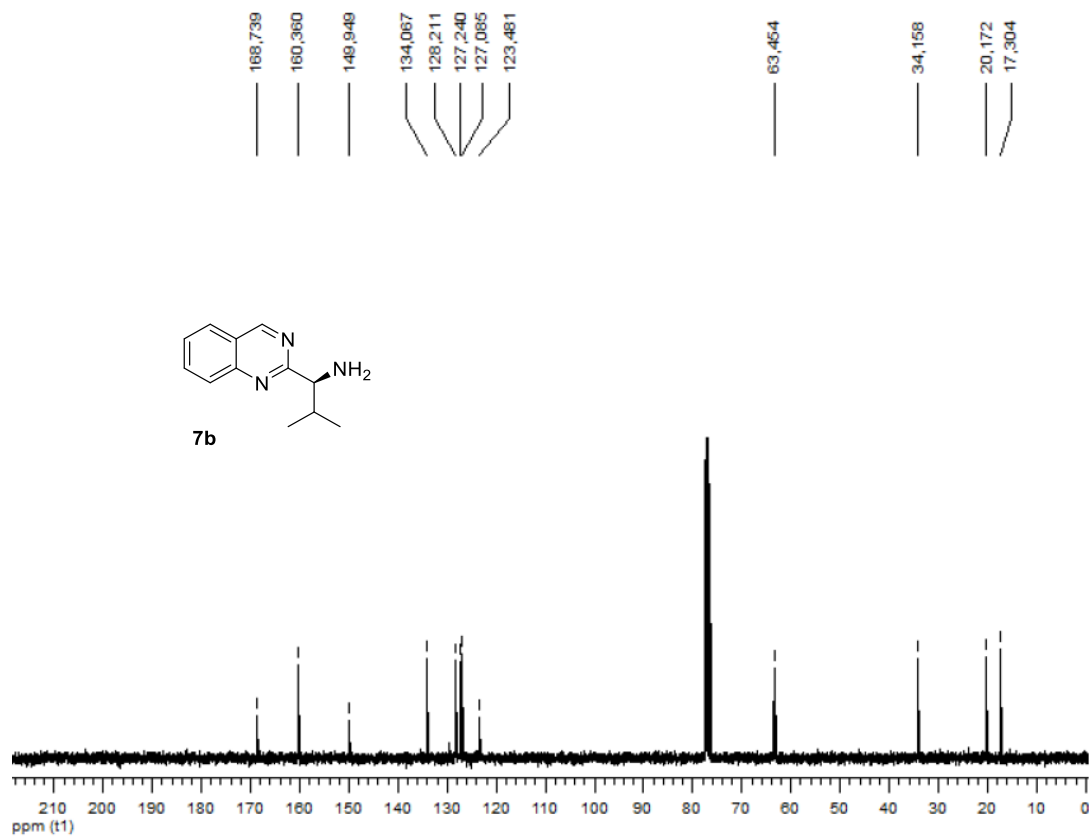
Ek 11. **6b**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



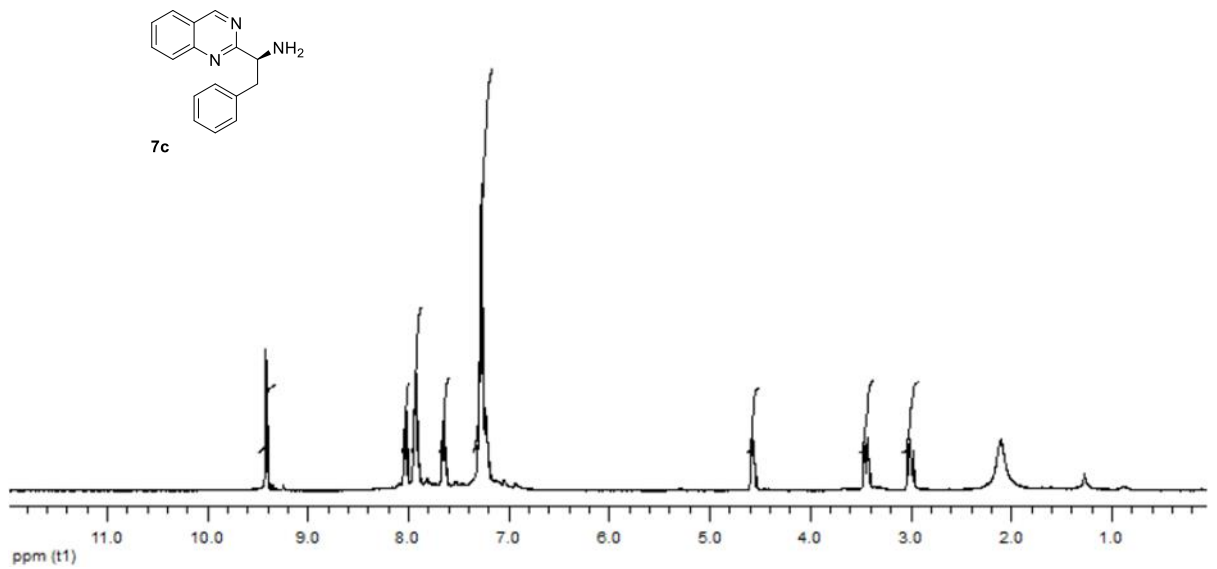
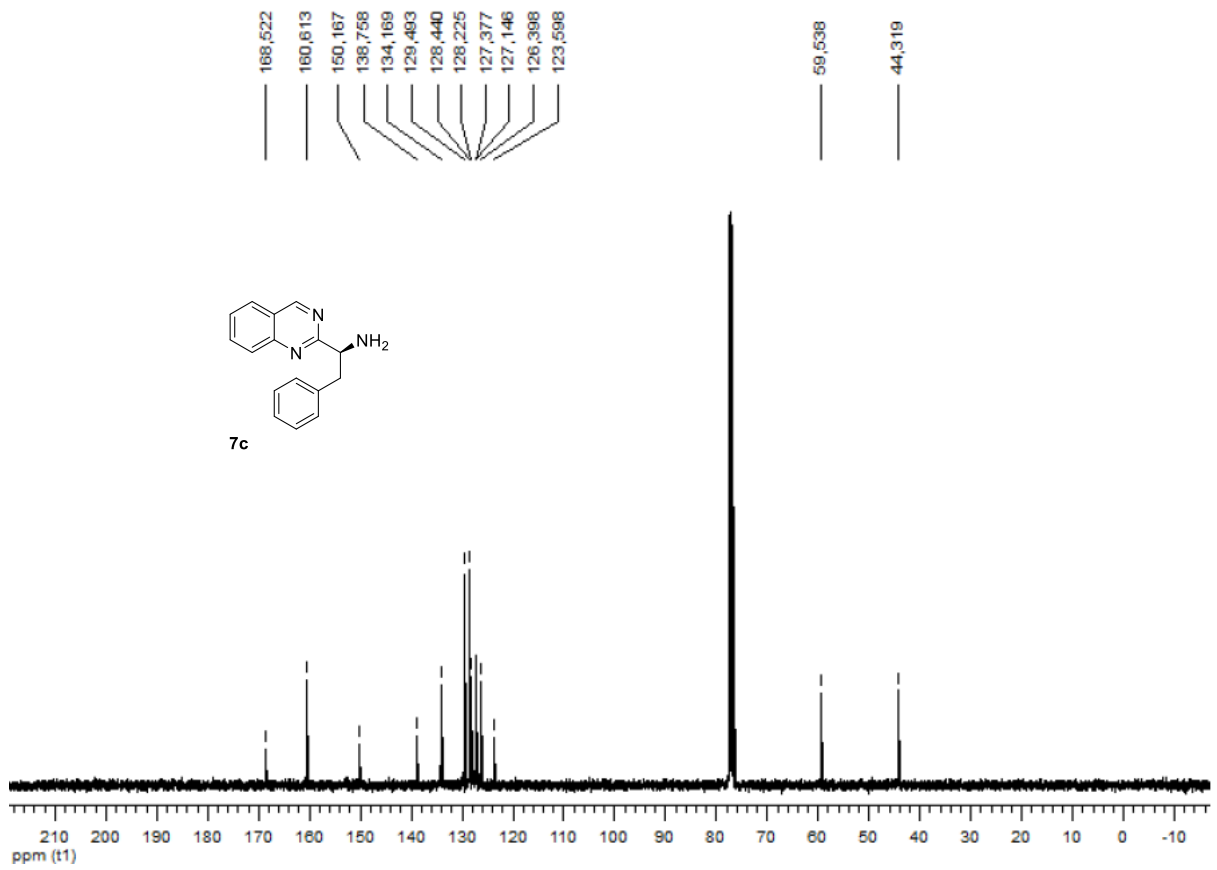
Ek 12. 6c'nin ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



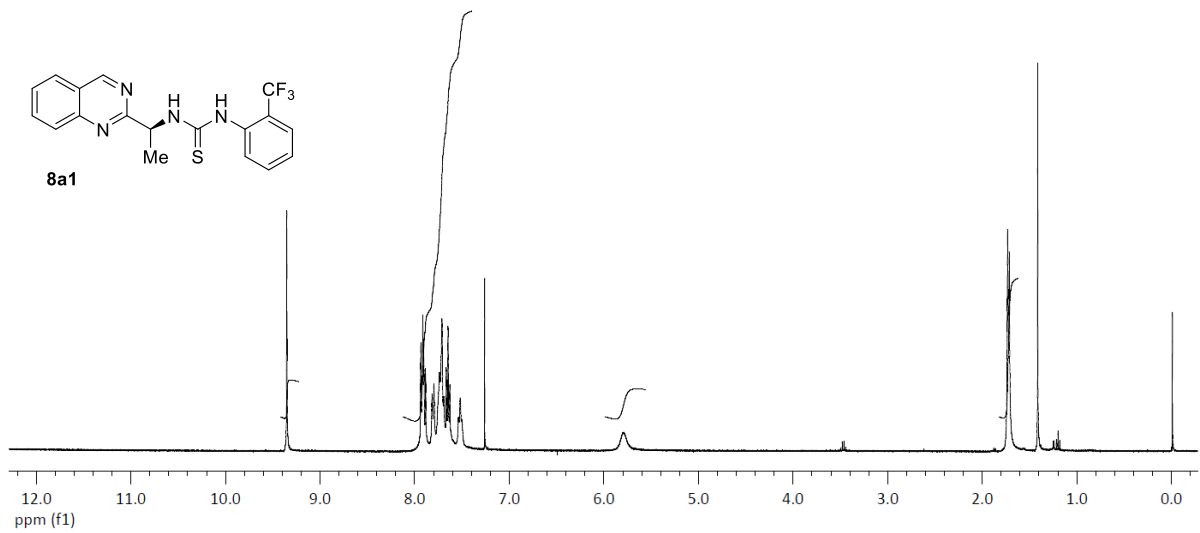
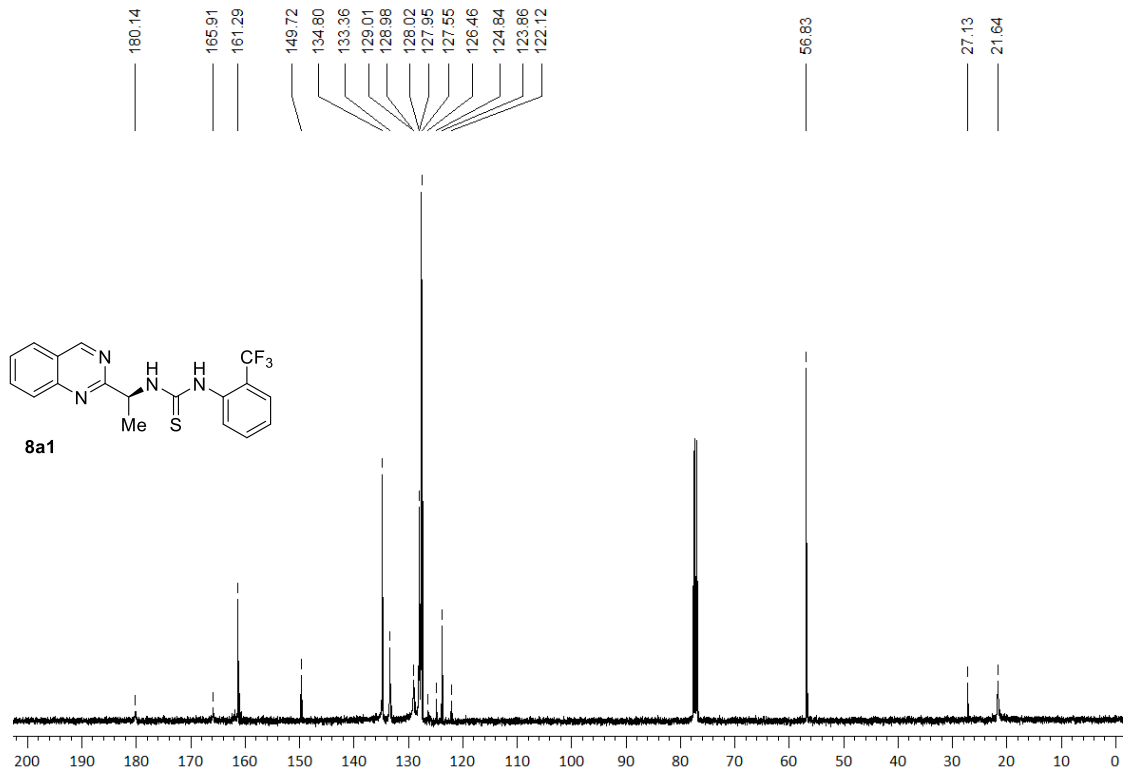
Ek 13. 7a'nın ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



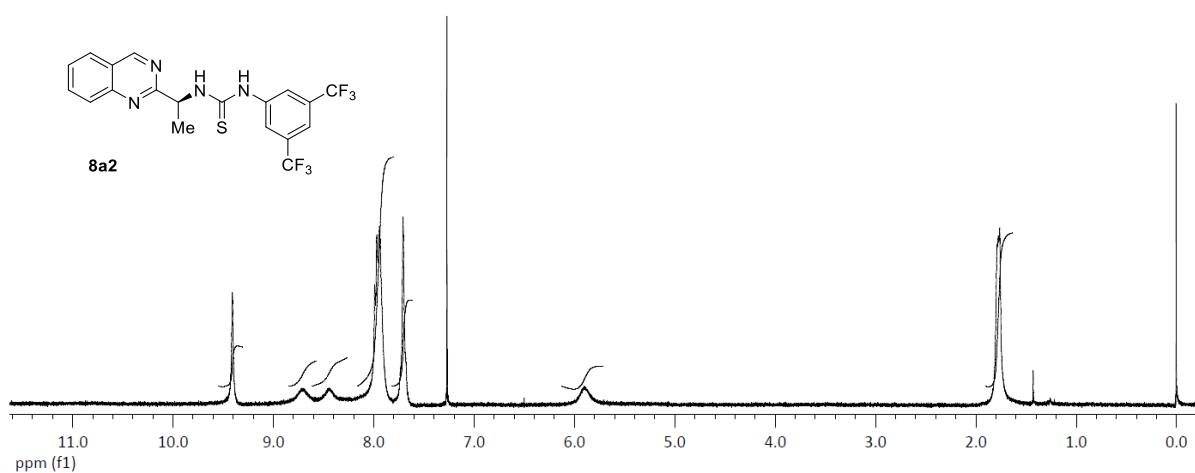
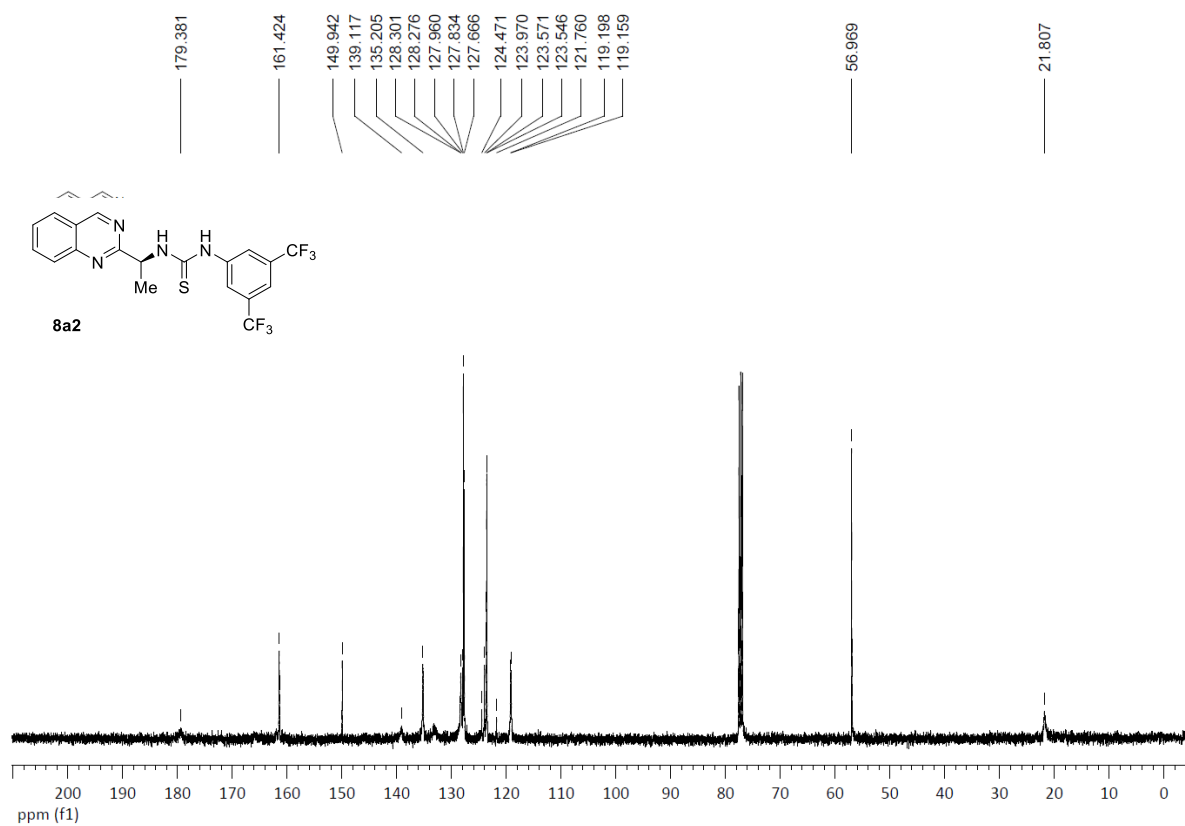
Ek 14. **7b**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



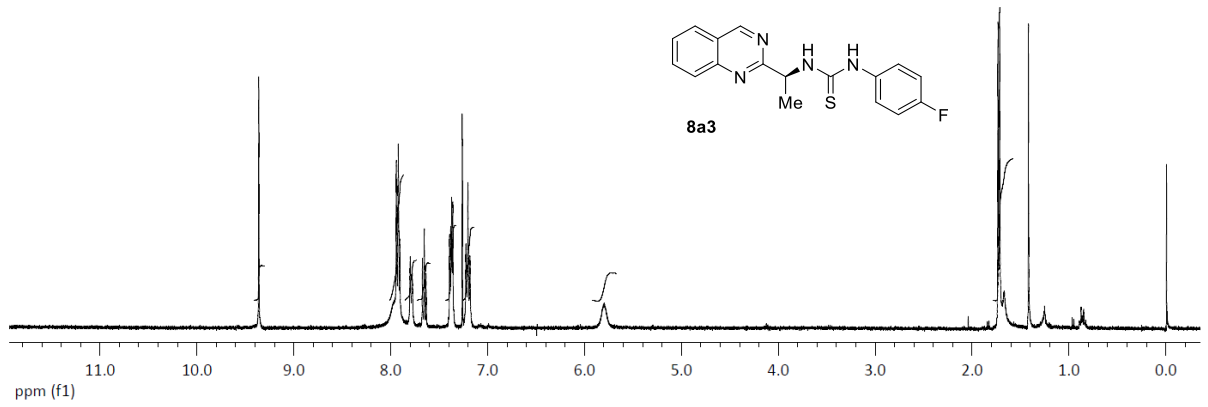
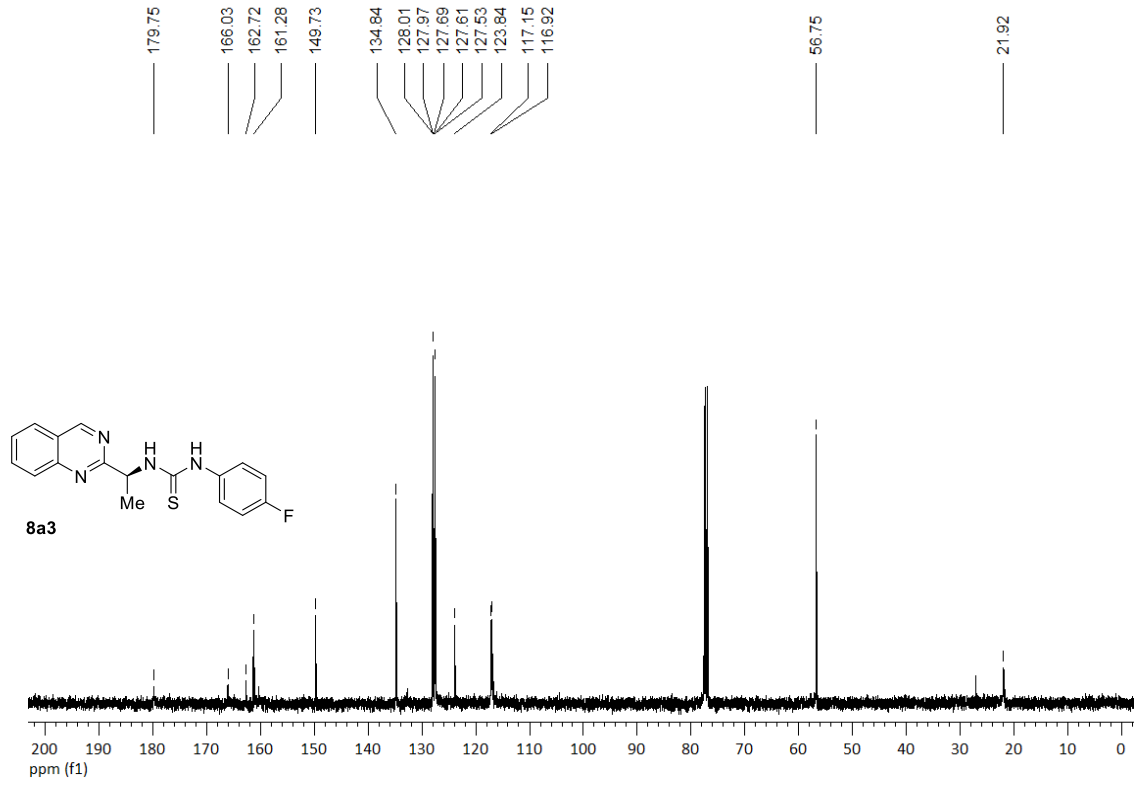
Ek 15. **7c**'nin ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



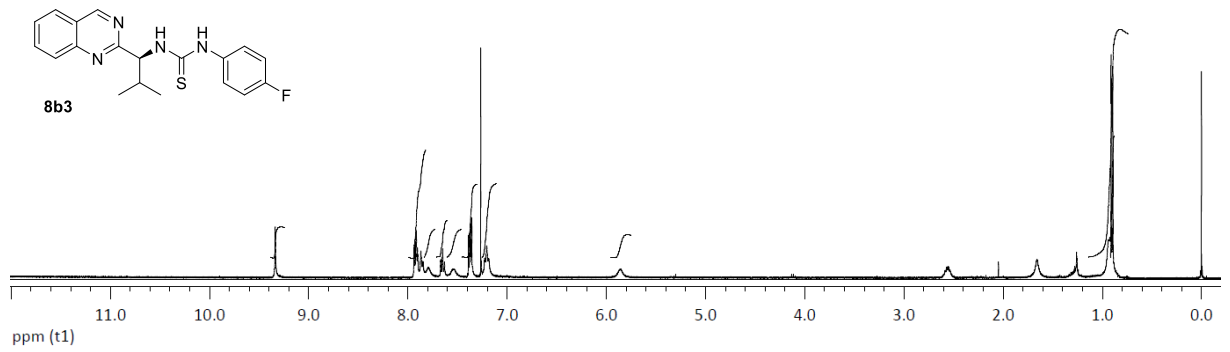
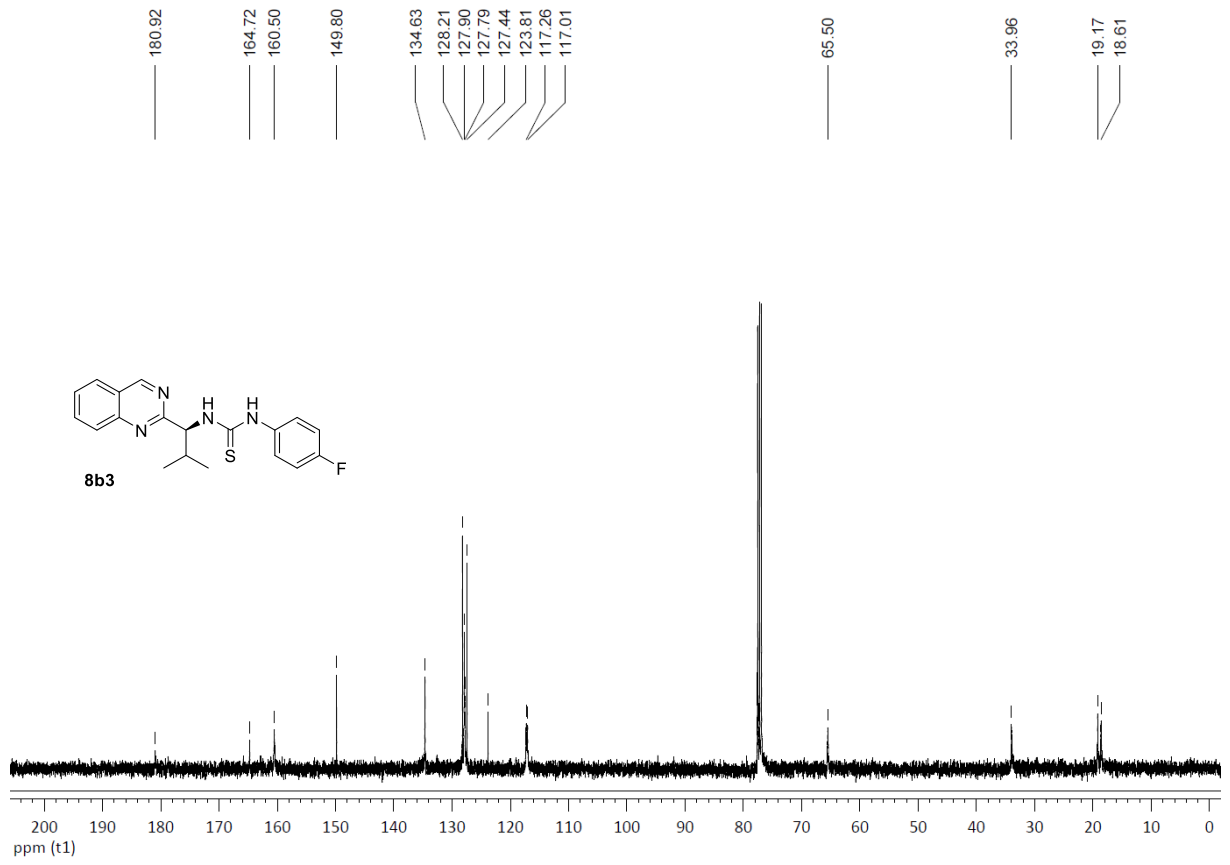
Ek 16. 8a1'in ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



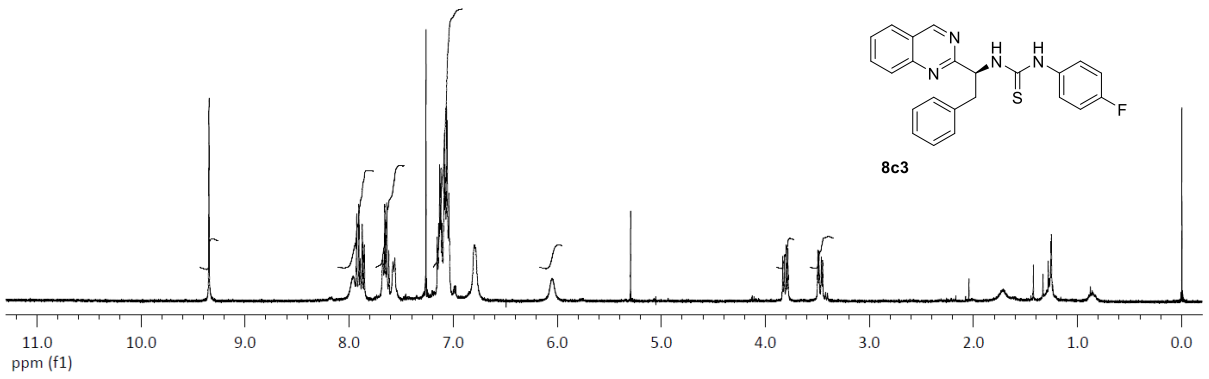
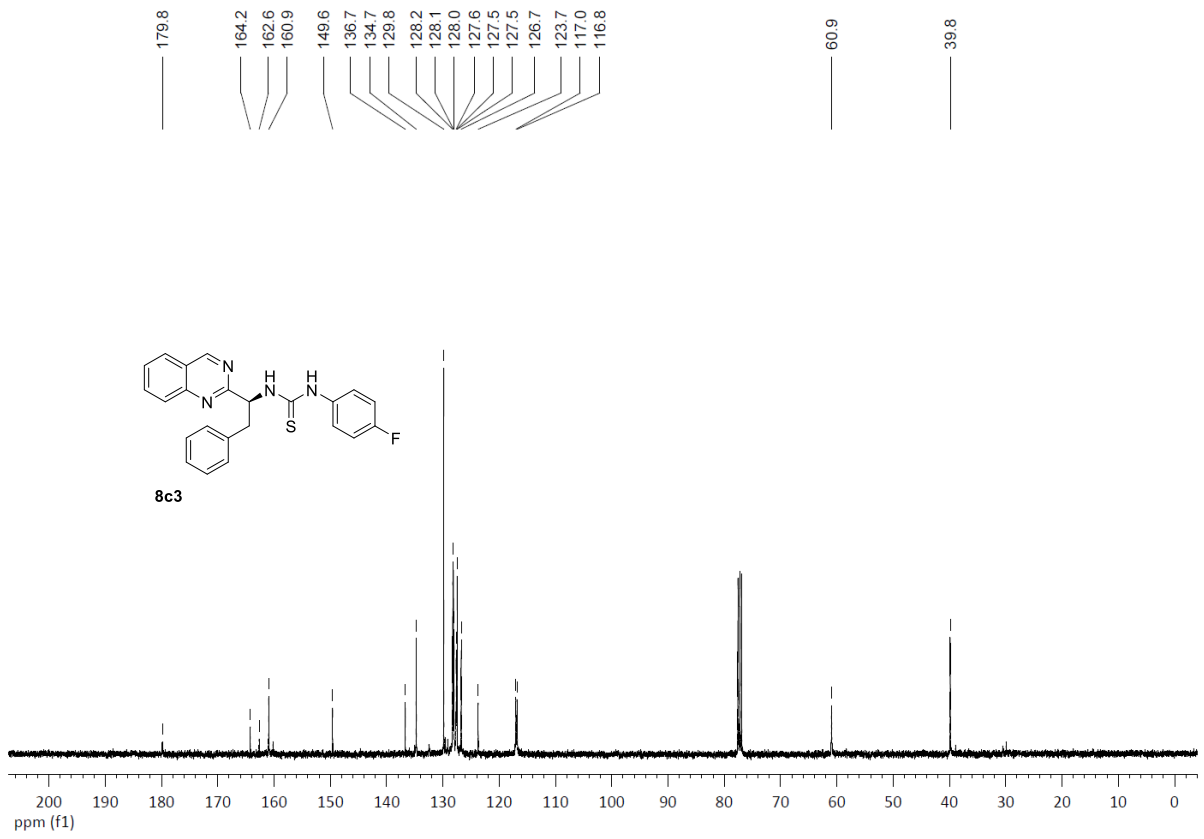
Ek 17. 8a2'nin ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



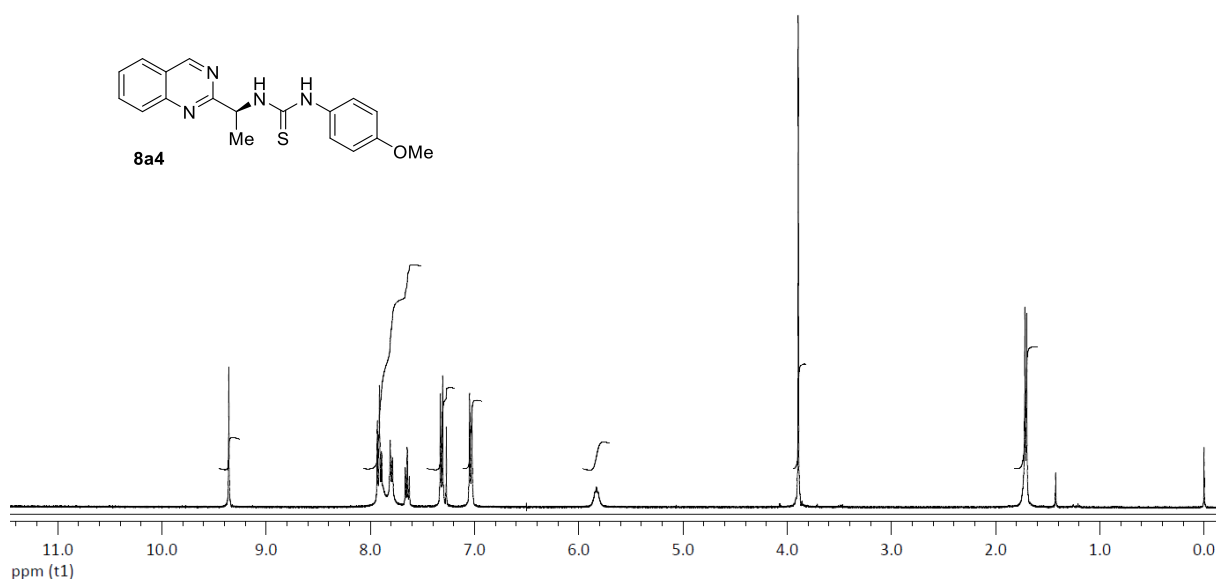
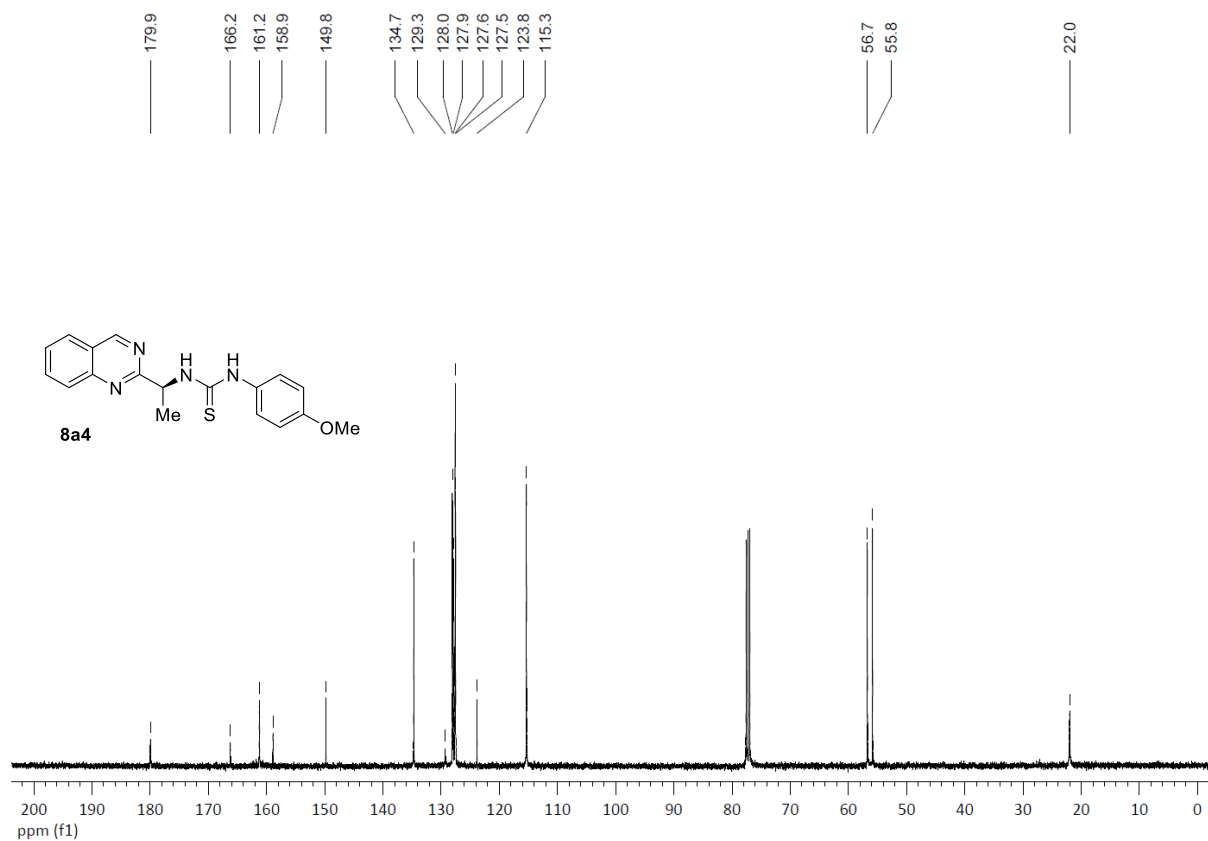
Ek 18. **8a3**'ün ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl_3)



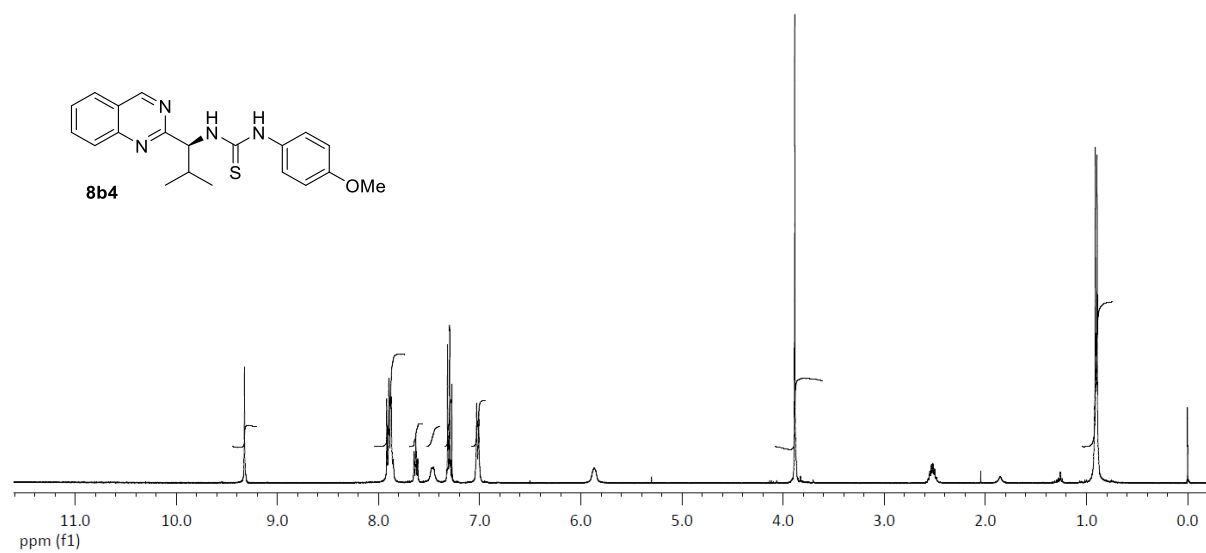
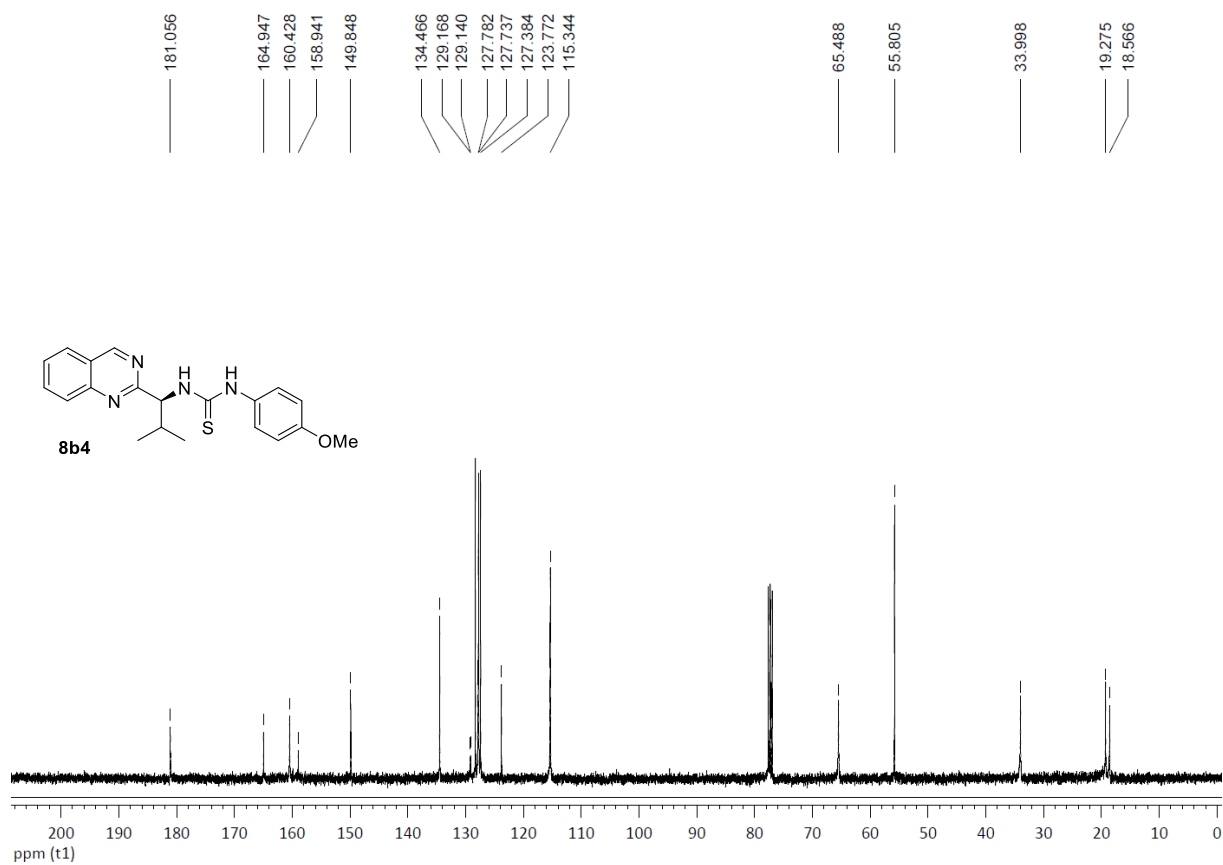
Ek 19. 8b3'ün ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



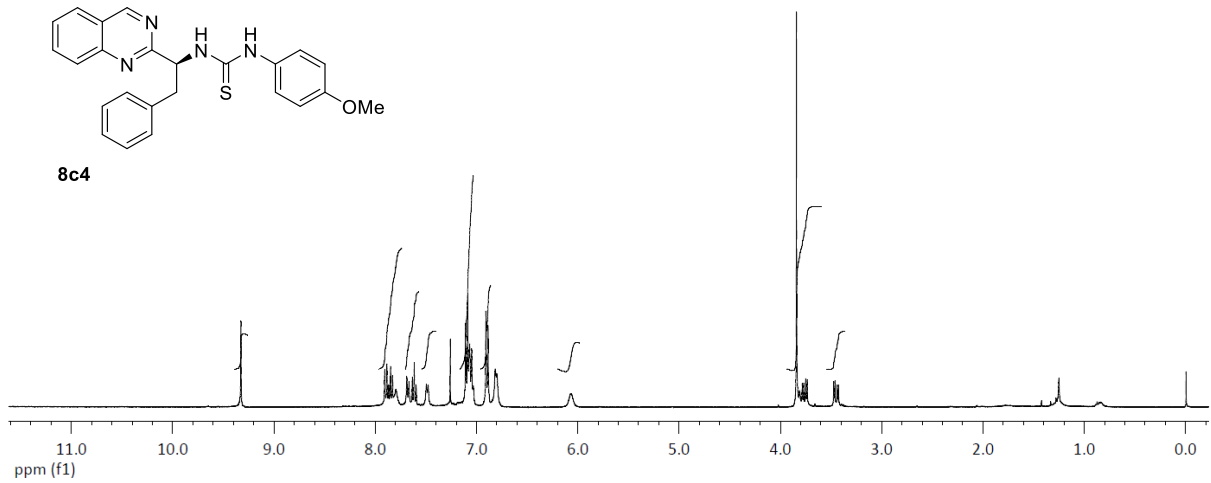
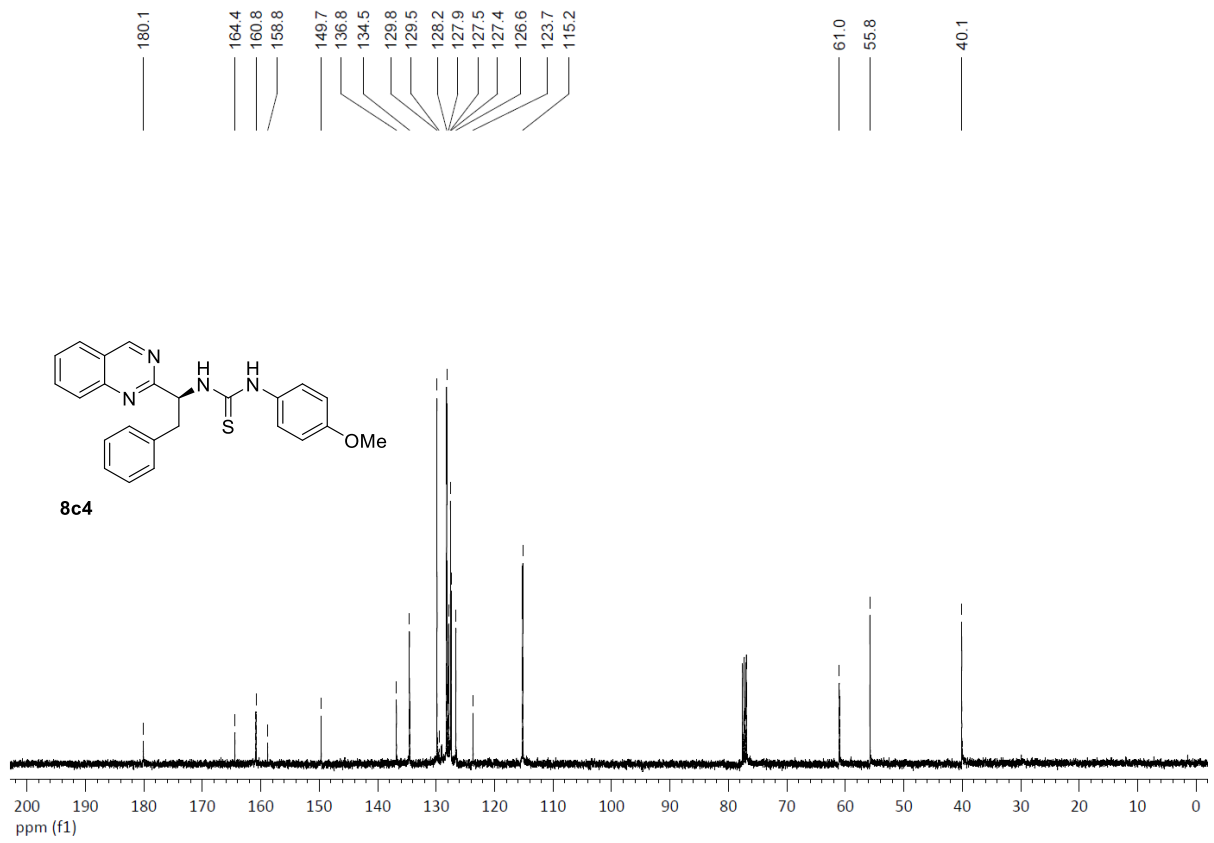
Ek 20. **8c3**'ün ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



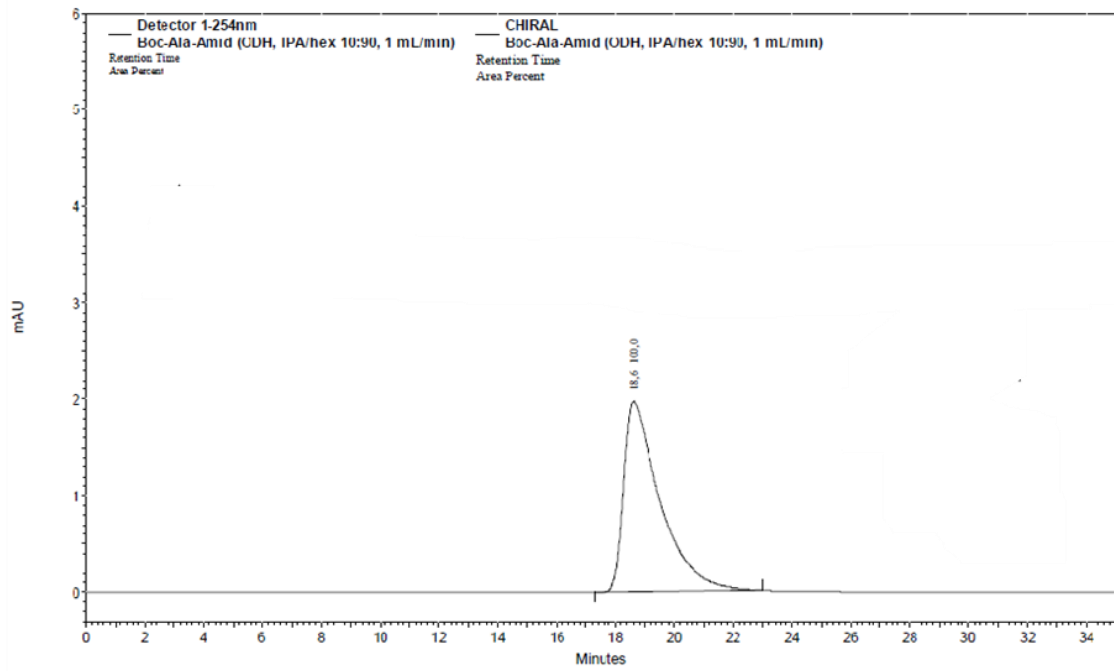
Ek 21. **8a4**'ün ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



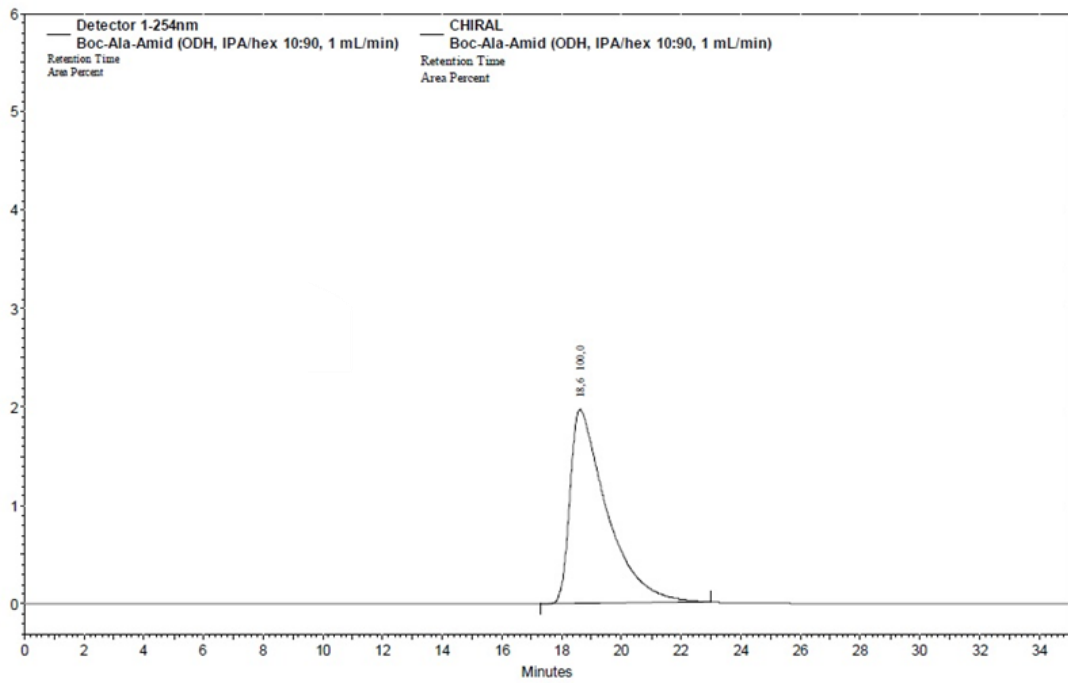
Ek 22. **8b4**'ün ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



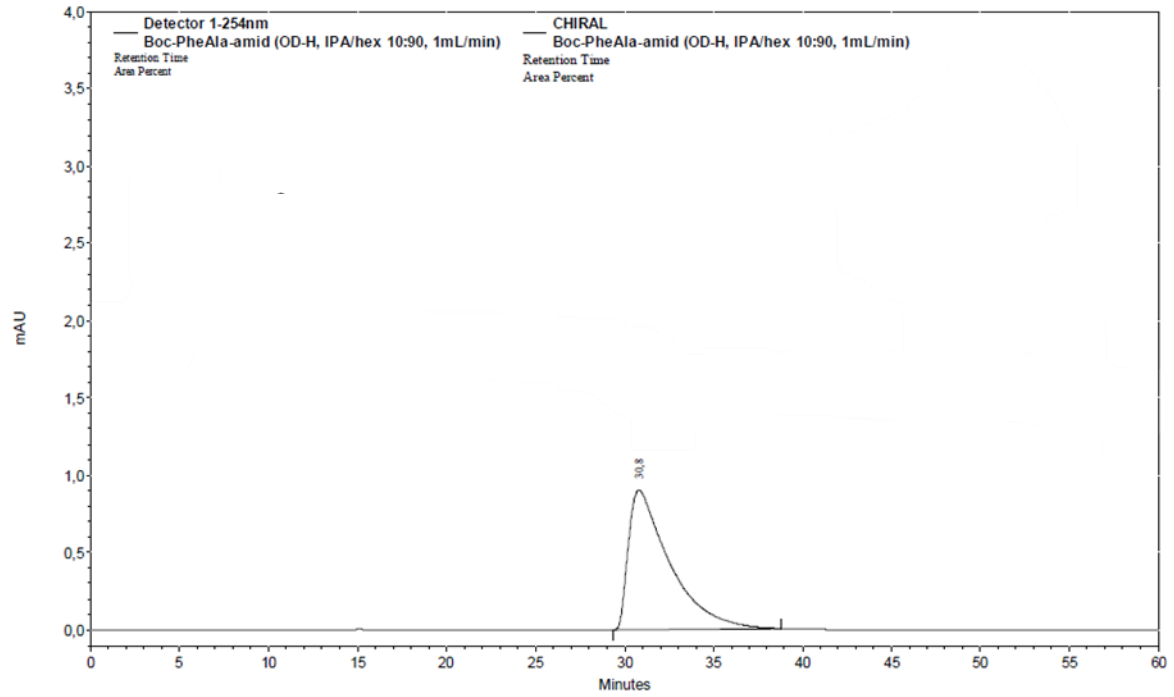
Ek 23. 8c4'ün ¹H-NMR (400 MHz) ve ¹³C-NMR (100 MHz) spektrumları (CDCl₃)



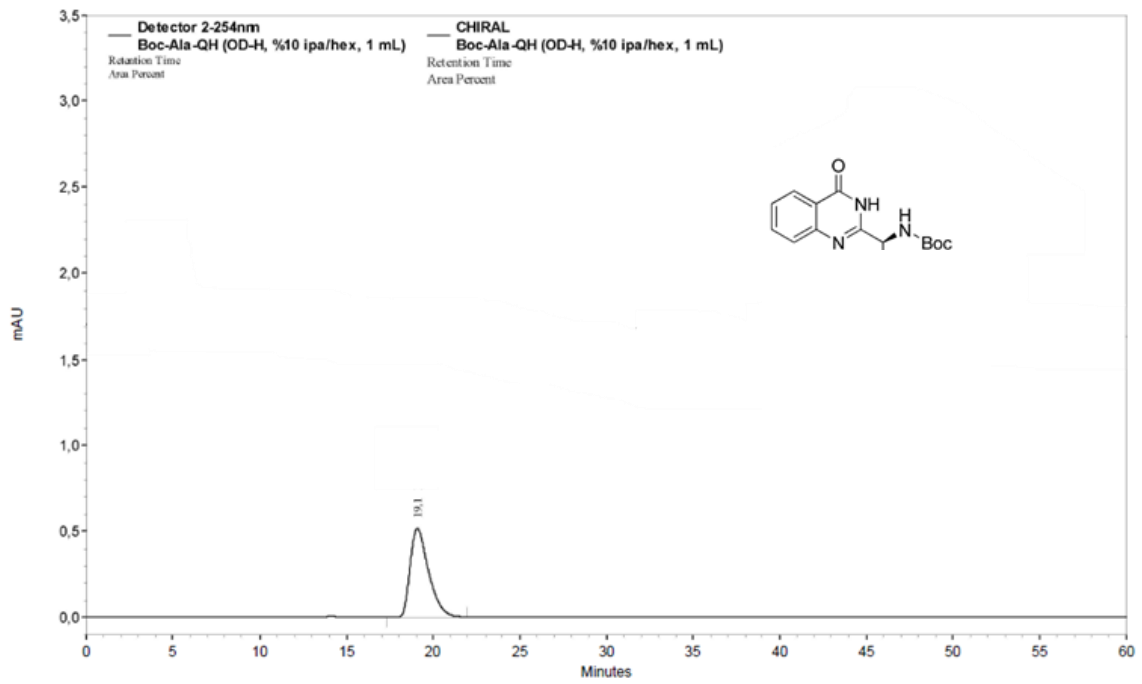
Ek 24. 3a'nın kiral HPLC spektrumu



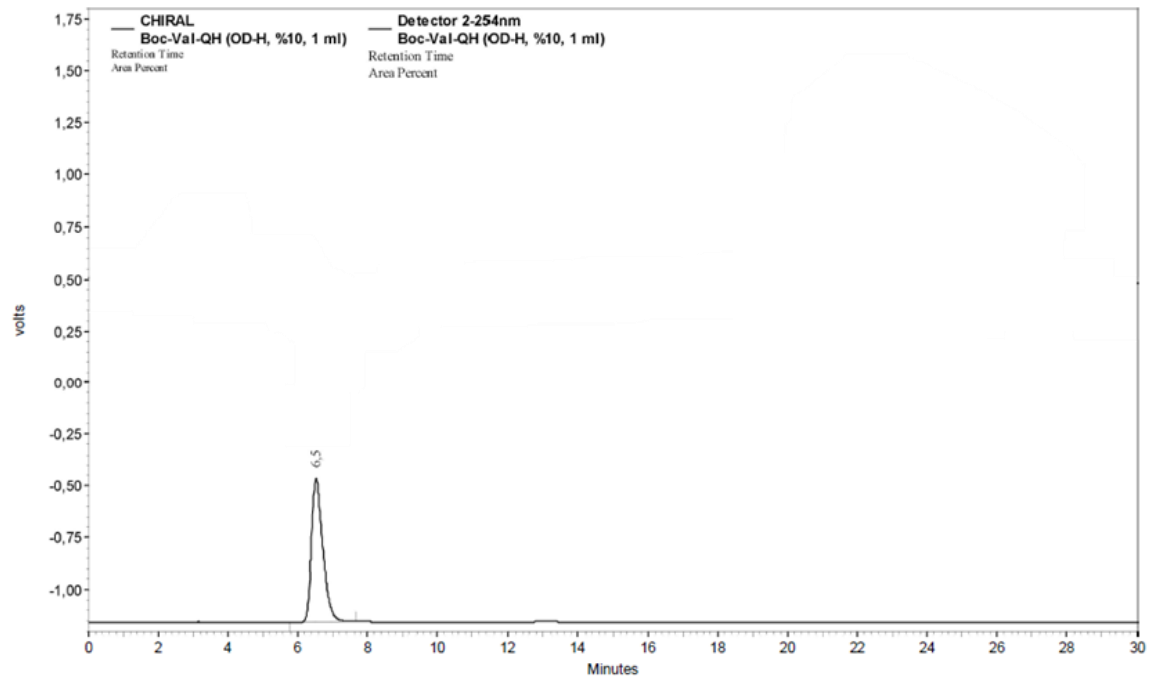
Ek 25. 3b'nin kiral HPLC spektrumu



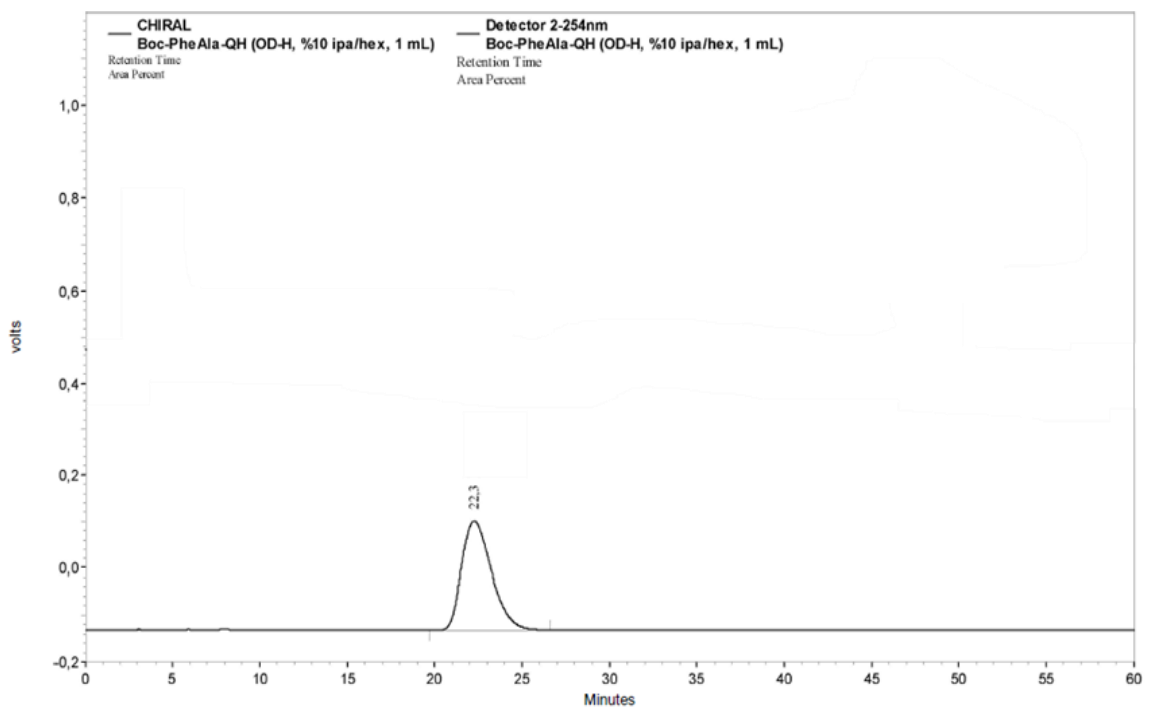
Ek 26. 3c'nin kiral HPLC spektrumu



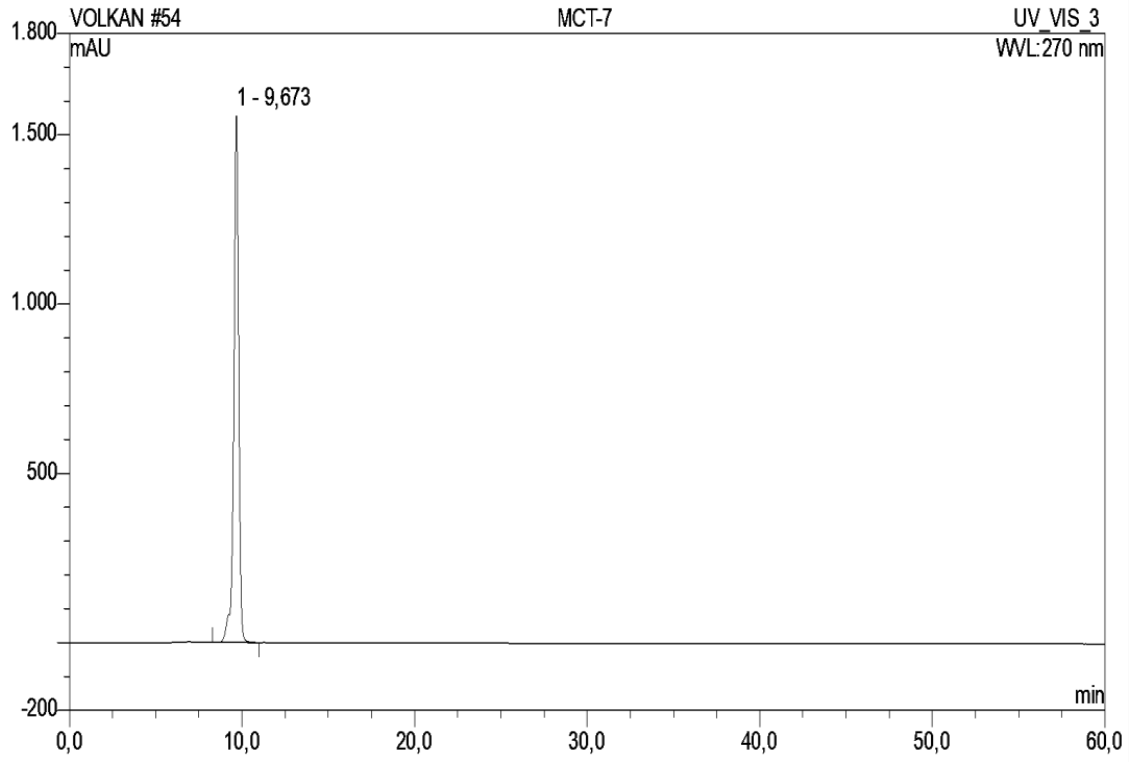
Ek 27. 4a'nın kiral HPLC spektrumu



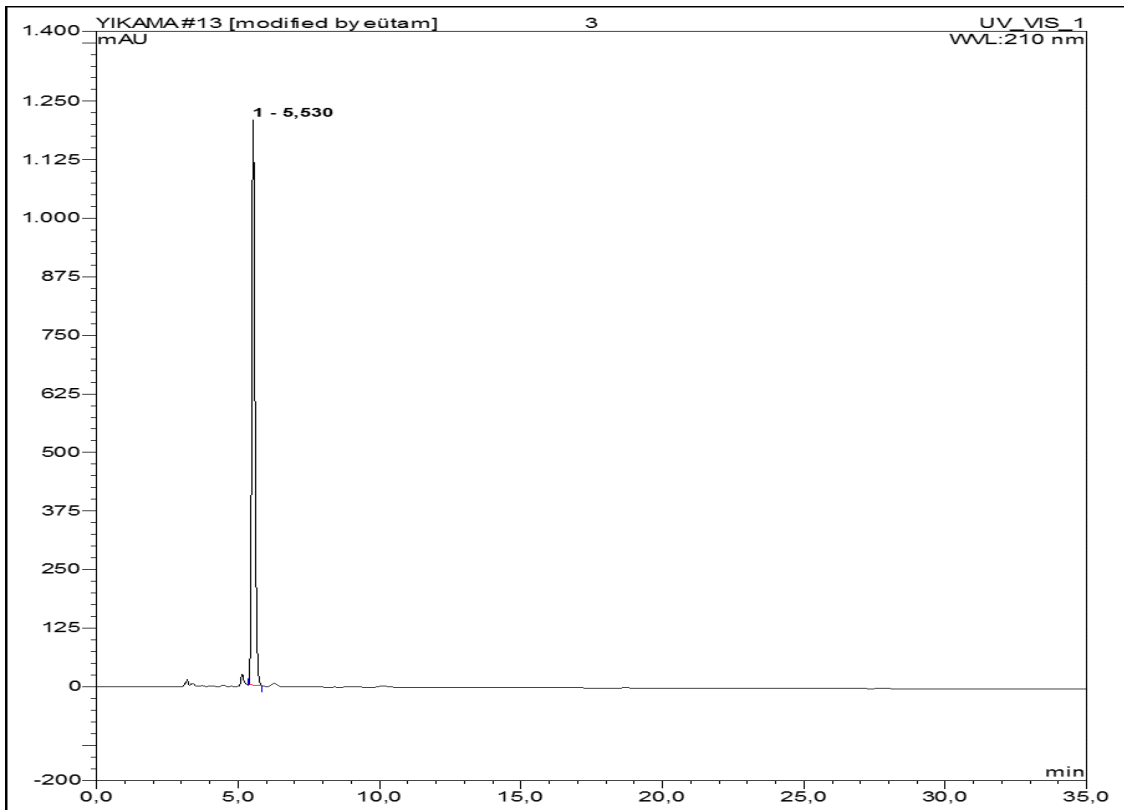
Ek 28. 4b'nin kiral HPLC spektrumu



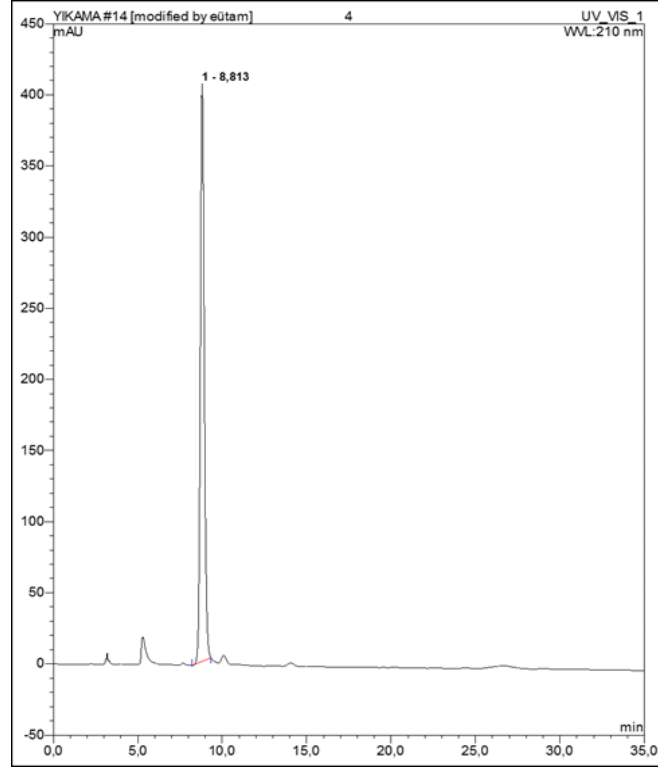
Ek 29. 4c'nin kiral HPLC spektrumu



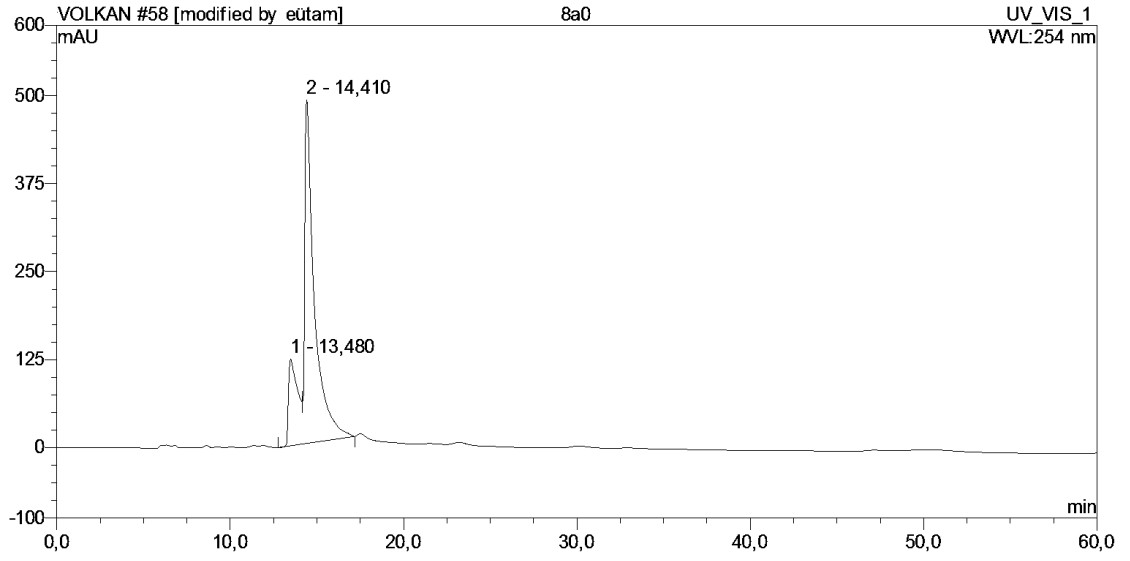
Ek 30. 6a'nın kiral HPLC spektrumu



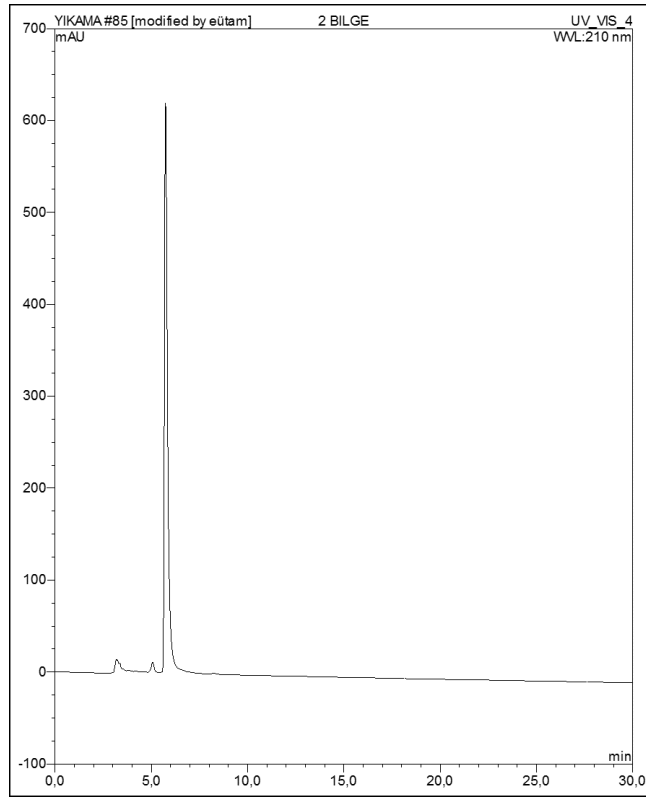
Ek 31. 6b'nin kiral HPLC spektrumu



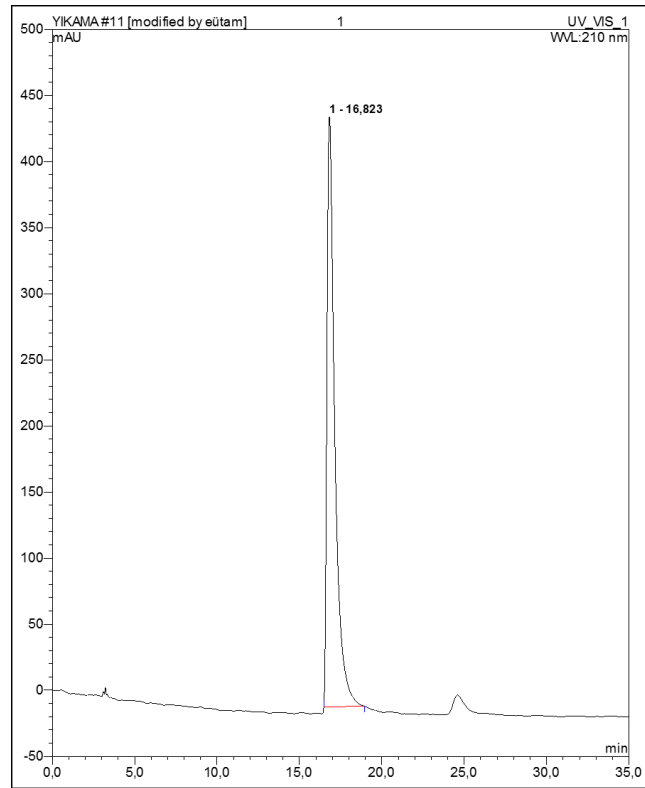
Ek 32. 6c'nin kiral HPLC spektrumu



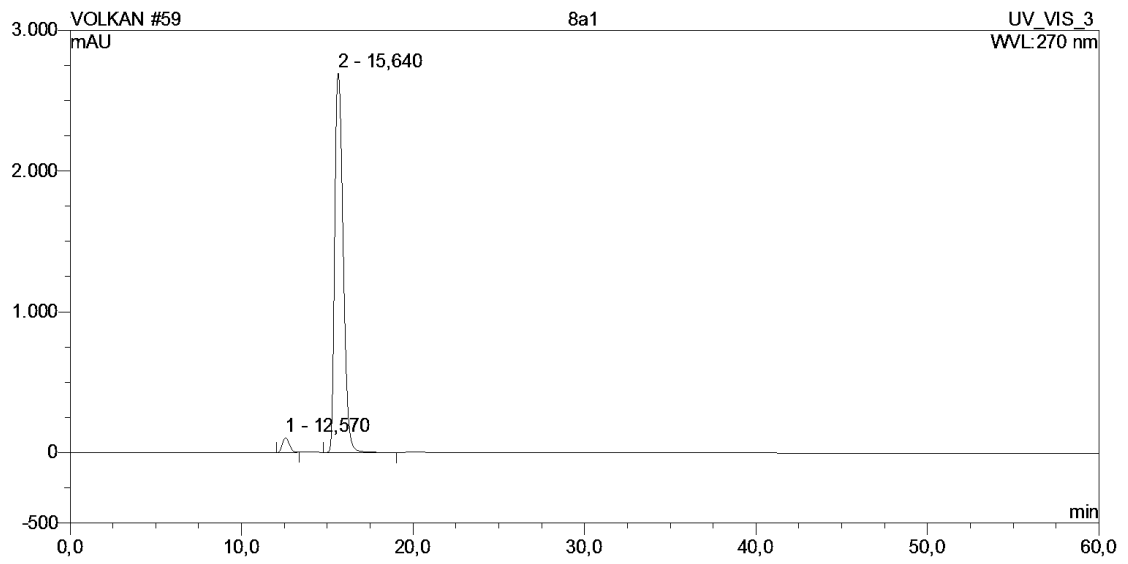
Ek 33. 7a'nın kiral HPLC spektrumu



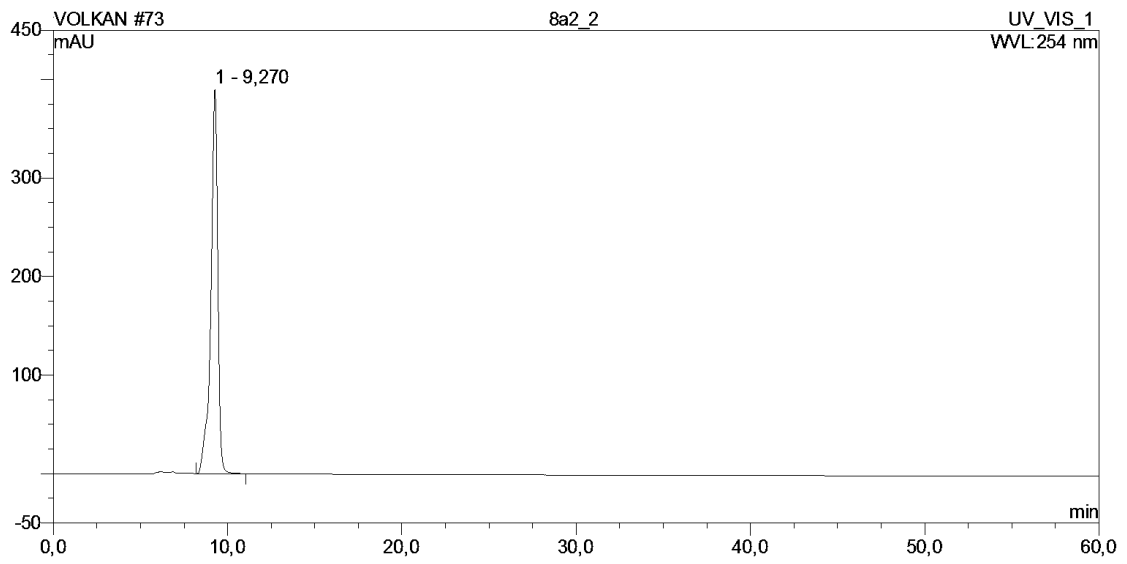
Ek 34. 7b'nin kiral HPLC spektrumu



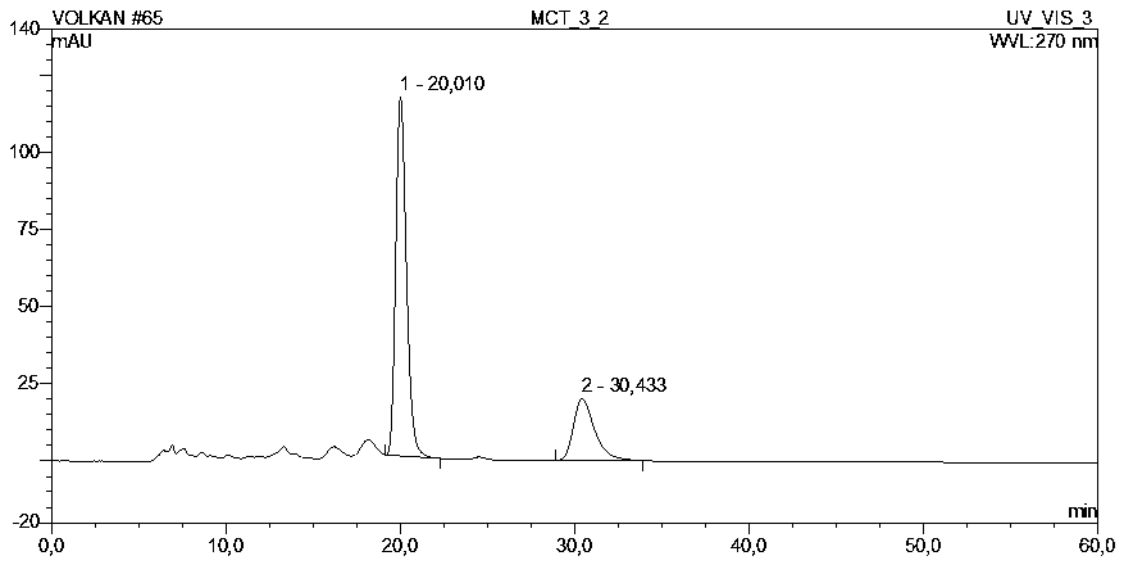
Ek 35. 7c'nin kiral HPLC spektrumu



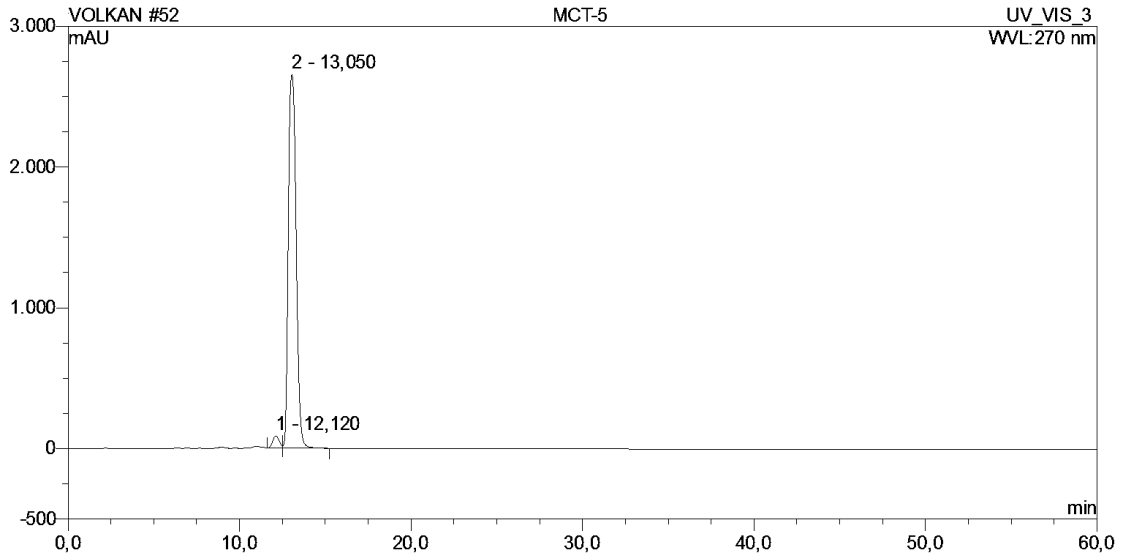
Ek 36. 8a1'in kiral HPLC spektrumu



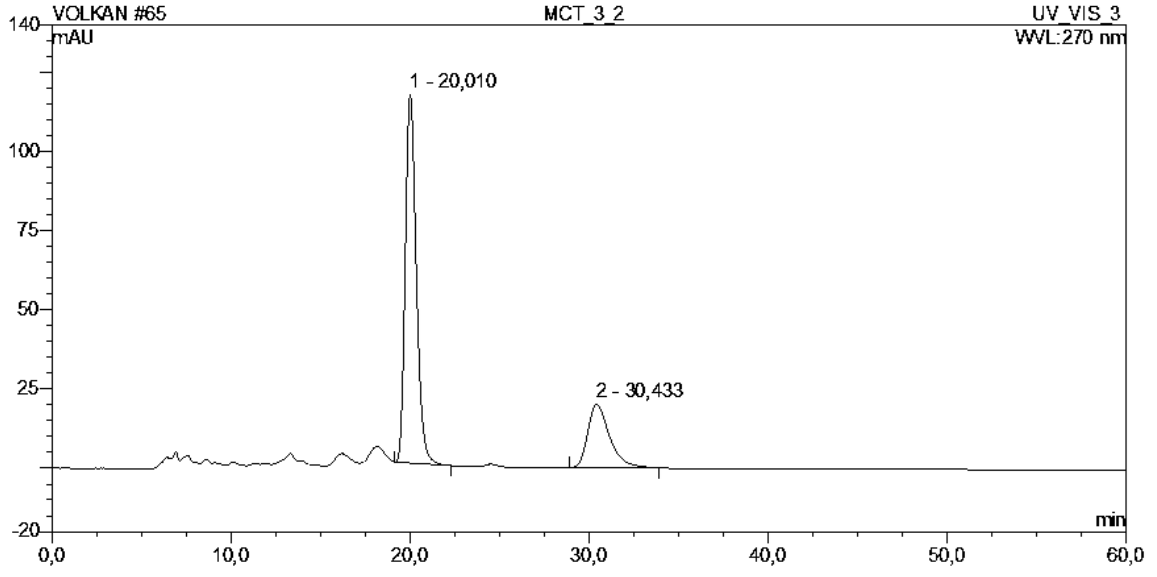
Ek 37. 8a2'nin kiral HPLC spektrumu



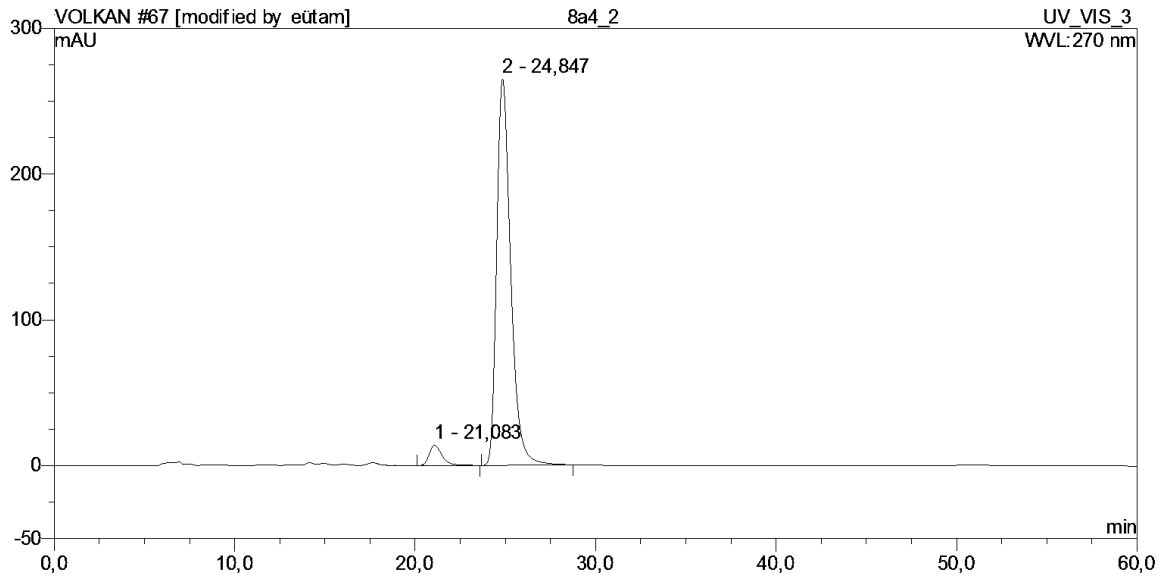
Ek 38. 8a3'ün kiral HPLC spektrumu



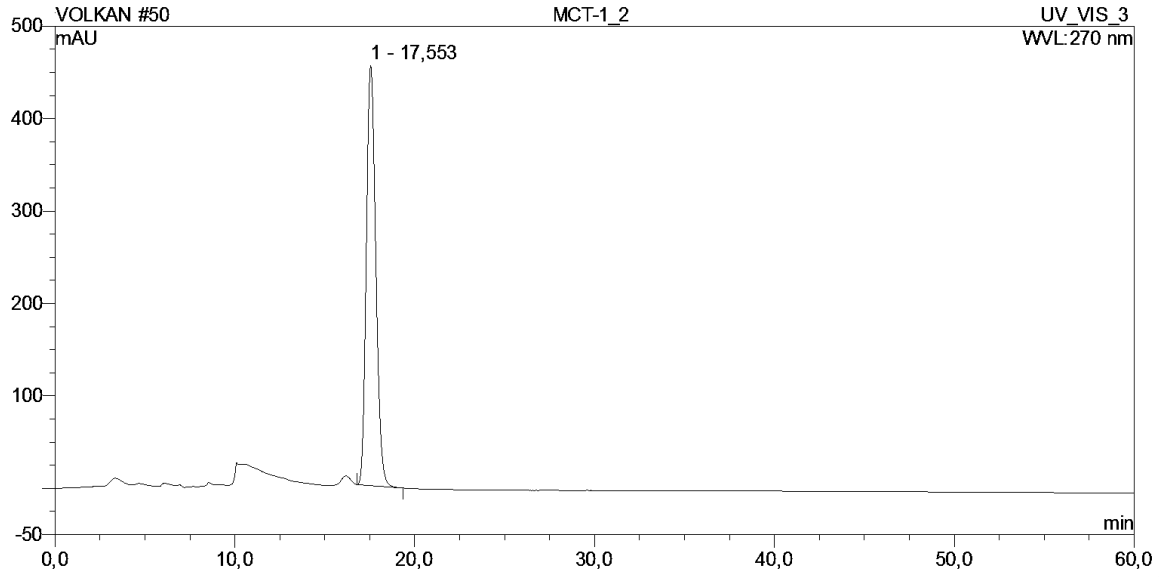
Ek 39. 8b3'ün kiral HPLC spektrumu



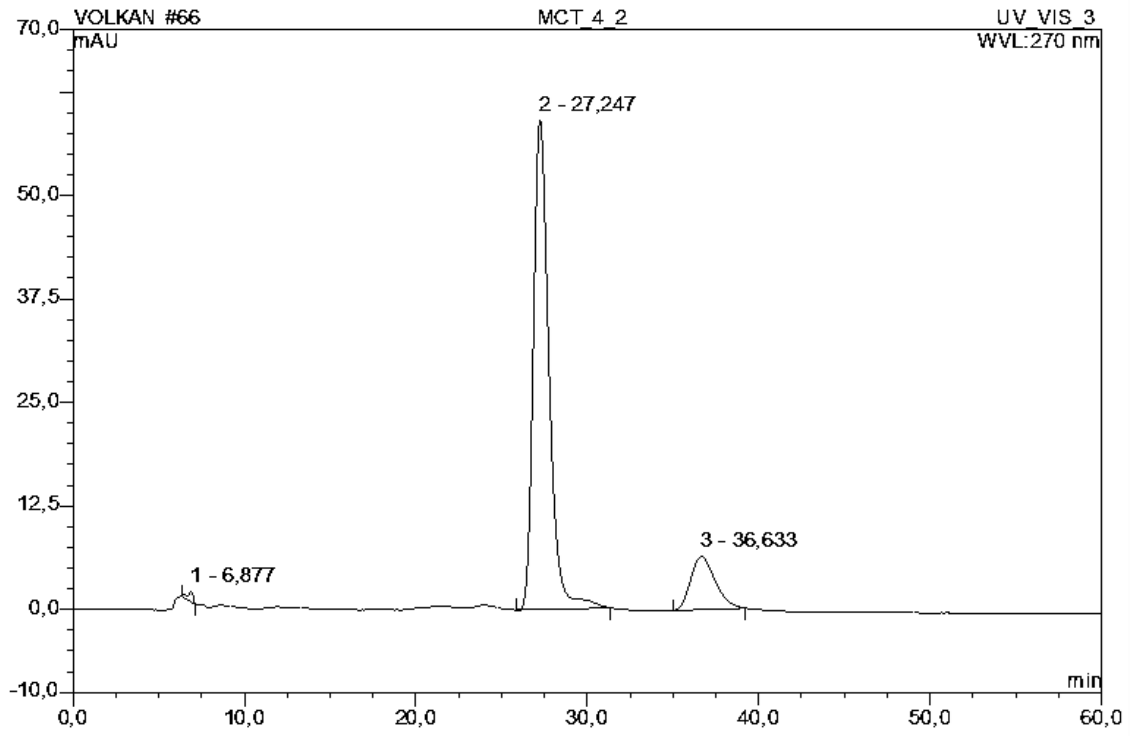
Ek 40. 8c3'ün kiral HPLC spektrumu



Ek 41. 8a4'ün kiral HPLC spektrumu



Ek 42. 8b4'ün kiral HPLC spektrumu



Ek 43. 8c4'ün kiral HPLC spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Kardelen Damla ALKİM, 11 Aralık 2000 tarihinde Milas'ta doğdu. İlköğrenimini Kocaeli'de, ortaöğrenimini Muğla'da tamamladı. 2019 yılında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi'ne başladı ve 2023 yılında lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

Yüksek lisans eğitimi süresince kinazolin temelli kiral tiyoüre bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirdi. Lisansüstü eğitimi kapsamında Tokat EBAT Kongresi, Van Ulusal Kimya Kongresi ve Antalya EBAT Kongresi'ne katıldı. Van Ulusal Kimya Kongresi'nde poster sunumu ile birincilik ödülü aldı.