



T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI TRİFLOROMETİL SÜBSTİTÜE
KALKONLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU
VE BU BİLEŞİKLERİN ANTİKANSER
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra Keziban ÇETİN

Danışman: Doç. Dr. Muhammed Fatih POLAT

FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Haziran 2025
Her Hakkı Saklıdır.

Esra Keziban ÇETİN FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

2025

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI TRİFLOROMETİL SÜBSTİTÜE KALKONLARIN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BU BİLEŞİKLERİN
ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra Keziban ÇETİN

Danışman: Doç. Dr. Muhammed Fatih POLAT

FARMASÖTİK KİMYA
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Haziran 2025
Her Hakkı Saklıdır.

Bilimsel Etiğe Uygunluk Sayfası

“Bazı Triflorometil Sübstitüe Kalkonların Sentezi, Karakterizasyonu Ve Bu Bileşiklerin Antikanser Özelliklerinin Araştırılması ” isimli “Yüksek Lisans” tezim tarafımda 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. 30/06/2025

Esra Keziban ÇETİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI TRİFLOROMETİL SÜBSTİTÜE KALKONLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BU BİLEŞİKLERİN ANTİKANSER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra Keziban ÇETİN

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Muhammed Fatih POLAT

Amaç: Kalkon bileşikleri, 1,3-diaril-2-propen-1-on yapısı taşıy ve antikanser aktivite olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Bu tez çalışmasında 9 adet flor, klor ve brom sübstitüe 2-triflorometil kalkon bileşiklerinin sentezlenmesi, karakterizasyonu ve in-vitro aktivite yöntemleriyle, A549 ve Hep3B hücre hatlarında antikanser aktivitelerinin belirlenmesi ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu tez çalışmasında bazik ortamda 2-triflorometilasetofenon bileşiğinden başlanarak, 2, 3 ve 4 pozisyonlarında flor, klor ve brom sübstitüe benzaldehit türevleri kullanılarak Claisen Schmidt kondenzasyon reaksiyonu üzerinden ilgili kalkon bileşiklerinin sentezi gerçekleştirildi. Sentezlenen kalkon türevlerinin farklı konsantrasyonlarının A549 ve Hep3B hücre hatlarında in-vitro aktivite yöntemleri ile antikanser aktiviteleri araştırıldı.

Bulgular: Elde edilen sonuçlar doğrultusunda; 2-triflorometil grubu içeren dokuz adet sentezlenmiş kalkon türevi arasında, 3'-konumunda klor atomu içeren bileşik (15), hem A549 hem de Hep3B kanser hücre hatlarına karşı en güçlü antiproliferatif aktiviteyi göstermiştir. Genel olarak, klor içeren bileşikler, flor ve bromo içeren türevlere kıyasla daha etkili bulunmuş; halojenin konumunun sitotoksik etki üzerinde belirgin bir rol oynadığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Sentezlenen kalkon türevleri arasında, özellikle 3'-klor içeren bileşiğin belirgin antiproliferatif etkisi, halojen türü ve konumunun biyolojik aktivite üzerinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur aynı zamanda yapısal modifikasyonların hedefe yönelik antikanser ilaç tasarımı dikkate alınması gerektiği de değerlendirilmektedir.

2025, 96 Sayfa

Anahtar kelimeler: Antikanser, Halojen, Kalkon Bileşikleri, Triflorometil

ABSTRACT

MSc Thesis

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, AND INVESTIGATION OF THE ANTICANCER PROPERTIES OF SOME TRIFLUOROMETHYL- SUBSTITUTED CHALCONES

Esra Keziban ÇETİN

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmaceutical Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammed Fatih POLAT

Objective: Chalcone compounds possess a 1,3-diaryl-2-propen-1-one structure and exhibit various biological activities, particularly anticancer activity. This thesis aimed to synthesize nine fluorine, chlorine, and bromine-substituted 2'-trifluoromethyl chalcone compounds, characterize them, and evaluate their anticancer activities on A549 and Hep3B cell lines using in-vitro activity methods.

Materials and Methods: In this thesis study, starting from 2-trifluoromethylacetophenone in a basic medium, the corresponding chalcone compounds were synthesized via the Claisen-Schmidt condensation reaction using benzaldehyde derivatives substituted with fluorine, chlorine, and bromine at the 2, 3, and 4 positions. The anticancer activities of the synthesized chalcone derivatives were investigated on A549 and Hep3B cell lines using in vitro activity methods at different concentrations.

Results: Based on the obtained results, among the nine synthesized chalcone derivatives containing a 2-trifluoromethyl group, the compound (15) bearing a chlorine atom at the 3'-position exhibited the strongest antiproliferative activity against both A549 and Hep3B cancer cell lines. Overall, chlorine-containing compounds were found to be more effective compared to their fluorine- and bromine-substituted counterparts; furthermore, the position of the halogen was observed to play a significant role in the cytotoxic effect.

Conclusion: Among the synthesized chalcone derivatives, the compound containing a 3'-chloro substituent showed a significant antiproliferative effect, demonstrating that the type and position of halogen play an important role in biological activity. It is also considered that structural modifications should be taken into account in targeted anticancer drug design.

2025, 96 Pages

Keywords: Anticancer, Chalcone Compounds, Halogen, Trifluoromethyl

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince çok değerli bilgiler paylaşan, tecrübesi ile yol gösteren, destek olan kıymetli tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Doç. Dr. Muhammed Fatih POLAT'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Sentez çalışmamda bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli Dr. Öğr. Üyesi Gülsen ÖZLİ hocama, bileşiklerimin MTT testinde bana yardımcı olan ve öğreten çok kıymetli Dr. Öğr. Üyesi Kübra Gizem YILDIZTEKİN hocama, bu testin sonuçlarını yorumlamamda bana yardımcı olan değerli Arş. Gör. İbrahim ÖZÇELİK'e, bileşikleri saflaştırmada bana destek olan kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Sefa GÖZCÜ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitim hayatım boyunca üzerimden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli ebeveynlerim İsfendiyar ÇETİN ve Sevda ÇETİN'e, isim ile birlikte tez çalışmamı yürütürken bana iş görevlerimde yardımcı olan, yükümü hafifleten manevi olarak yanımda duran sevgili iş arkadaşım Emine TAŞCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Esra Keziban ÇETİN

Haziran, 2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Kabul ve Onay.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Flavonoidler	2
2.1.1. Flavonoid Biyosentezi.....	3
2.2. Kalkonlar	3
2.2.1. Kalkonların Kimyası.....	4
2.2.2. Kalkonların Sentezi.....	6
2.2.2.1. Claisen-Schmidt Kondenzasyonu.....	8
2.3. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri.....	8
2.4. Kalkonların Bazı Aktivite Mekanizmaları.....	10
2.5. Antikanser Aktiviteye Sahip Bazı Doğal ve Sentetik Kalkonlar.....	11
2.5.1. Halojen Sübstitüe Yapıların İlaç Tasarımındaki Rolü.....	15
2.5.2. Halojen veya Triflorometil Grubu İçeren Kalkonların Antikanser Aktiviteleri.....	17
3. MATERYAL VE METOD.....	23
3.1. Bileşiklerin Sentez Planı	23
3.2. Bileşiklerin Sentezi	25
3.3. Bileşiklerin Saflaştırılması.....	26
3.3.1. Bileşik 11'in Saflaştırılması.....	26
3.3.2. Bileşik 12'nin Saflaştırılması.....	26
3.3.3. Bileşik 13'ün Saflaştırılması.....	27
3.3.4. Bileşik 14'ün Saflaştırılması.....	28

3.3.5. Bileşik 15'in Saflaştırılması.....	29
3.3.6. Bileşik 16'nın Saflaştırılması.....	30
3.3.7. Bileşik 17'nin Saflaştırılması.....	31
3.3.7. Bileşik 18'in Saflaştırılması.....	32
3.3.9. Bileşik 19'un Saflaştırılması.....	33
3.4. Antikanser Aktivite Çalışması	34
3.4.1. Uygun Hücre Sayılarının Belirlenmesi	35
3.4.2. Hep3B ve A549 Hücrelerinde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)- 2,5 difeniltetrazolyum Bromür Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi.....	36
3.4.2.1. Yöntemin Esası.....	36
3.4.2.2. Yöntemin Uygulanışı.....	36
3.4.2.3. Hücre Canlılığının Hesaplanması.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. Deneysel Bulgular.....	38
4.1.1. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2"-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (11) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	38
4.1.2. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2"-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (12) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	40
4.1.3. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2"-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (13) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	42
4.1.4. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3"-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (14) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları	44
4.1.5. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3"-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (15) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	46
4.1.6. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3"-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (16) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	48
4.1.7. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4"-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (17) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	50
4.1.8. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4"-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (18) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	52
4.1.9. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4"-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (19) Sentezi ve ¹ H NMR, ¹³ C NMR ve HRMS Spektrumları.....	54
4.2. Sentezlenen Bileşiklerin (Bileşik 11-19) Sitotoksite Tayini Sonuçları.....	56
5. TARTIŞMA.....	68
5.1. Bileşiklerin Sentezlerine İlişkin Tartışma	68
5.2. Bileşiklerin Biyoaktivitelerine İlişkin Tartışma.....	68

6. SONUÇ.....	72
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	79



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. 1,3 diaril-2-propen-1-on Yapısına Sahip Kalkonların Genel Kimyasal Yapısı.....	4
Şekil 2.2. Kalkonların (1) Trans (E) ve (2) Cis (Z) İzomerleri.....	4
Şekil 2.3. Klinik Olarak Onaylanmış Kalkonlar.....	9
Şekil 2.4. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri.....	10
Şekil 2.5. İsoliquiritigenin Moleküler Yapısı	12
Şekil 2.6. SL4 Moleküler Yapısı	13
Şekil 2.7. Metoksikalkon Türevi Olan Bileşikler.....	13
Şekil 2.8. Prasad ve ark. Tarafından Sentezlenen, A549 Hücre Hattında En Aktif Olan Trimetoksifenil Pirazol İçeren Bileşik.....	14
Şekil 2.9. Farghaly ve ark. Tarafından Sentezlenen Tiyazol Kalkon Bileşiği.....	14
Şekil 2.10. Padhy ve ark. Sentezledikleri Florlu Kalkonlardan 1-(2hidroksifenil)- 3-(2,4-diflorofenil)prop-2-en-1-on Bileşiği.....	18
Şekil 2.11. B Halkasında 2,5-difloro İçeren, A Halkasında 2,4,6-trimetoksi ve 2,4,6 trihidroksi İçeren Kalkon Bileşikleri.....	18
Şekil 2.12. Polat ve ark. Tarafından Sentezlenen Triflorometil Ve Flor Sübstitüeli Bileşikler.....	19
Şekil 2.13. Sentezledikleri Furan Kalkon Bileşiği C ₂₀ H ₁₅ ClO ₃	20
Şekil 2.14. 5'-Kloro-2,2'-dihidroksikalkon ve 5'-bromo-2'-hidroksi-2-metoksikalkon...20	
Şekil 2.15. Sentezledikleri Bileşik H ₇₂	21
Şekil 2.16. 4-NO ₂ ve 3,4-difloro İçeren Kalkonlar.....	22
Şekil 3.1. Bileşiklerin (11-19) Genel Sentez Şeması.....	24
Şekil 3.2. Kalkon Bileşiklerinin (11-19) Genel Reaksiyon Mekanizması.....	24
Şekil 3.3. Bileşik 11'in Preparatif HPLC Kromatogramı	26
Şekil 3.4. Bileşik 12'nin Preparatif HPLC Kromatogramı	27
Şekil 3.5. Bileşik 13'ün Preparatif HPLC Kromatogramı.....	28
Şekil 3.6. Bileşik 14'ün Preparatif HPLC Kromatogramı.....	29
Şekil 3.7. Bileşik 15'in Preparatif HPLC Kromatogramı.....	30
Şekil 3.8. Bileşik 16'nın Preparatif HPLC Kromatogramı.....	31
Şekil 3.9. Bileşik 17'nin Preparatif HPLC Kromatogramı.....	32
Şekil 3.10. Bileşik 18'nin Preparatif HPLC Kromatogramı.....	33
Şekil 3.11. Bileşik 19'un Preparatif HPLC Kromatogramı.....	34

Şekil 4.1. Bileşik 11'in Kimyasal Yapısı.....	38
Şekil 4.2. Bileşik 11'in ¹ H NMR Spektrumu.....	39
Şekil 4.3. Bileşik 11'in ¹³ C NMR Spektrumu.....	39
Şekil 4.4. Bileşik 11'in HRMS Spektrumu.....	40
Şekil 4.5. Bileşik 12'nin Kimyasal Yapısı.....	40
Şekil 4.6. Bileşik 12'nin ¹ H NMR Spektrumu.....	41
Şekil 4.7. Bileşik 12'nin ¹³ C NMR Spektrumu.....	41
Şekil 4.8. Bileşik 12'nin HRMS Spektrumu.....	42
Şekil 4.9. Bileşik 13'ün Kimyasal Yapısı.....	42
Şekil 4.10. Bileşik 13'ün ¹ H NMR Spektrumu.....	43
Şekil 4.11. Bileşik 13'ün ¹³ C NMR Spektrumu.....	43
Şekil 4.12. Bileşik 13'ün HRMS Spektrumu.....	44
Şekil 4.13. Bileşik 14'ün Kimyasal Yapısı.....	44
Şekil 4.14. Bileşik 14'ün ¹ H NMR Spektrumu.....	45
Şekil 4.15. Bileşik 14'ün ¹³ C NMR Spektrumu.....	45
Şekil 4.16. Bileşik 14'ün HRMS Spektrumu.....	46
Şekil 4.17. Bileşik 15'in Kimyasal Yapısı.....	46
Şekil 4.18. Bileşik 15'in ¹ H NMR Spektrumu.....	47
Şekil 4.19. Bileşik 15'in ¹³ C NMR Spektrumu.....	47
Şekil 4.20. Bileşik 15'in HRMS Spektrumu.....	48
Şekil 4.21. Bileşik 16'nın Kimyasal Yapısı.....	48
Şekil 4.22. Bileşik 16'nın ¹ H NMR Spektrumu.....	49
Şekil 4.23. Bileşik 16'nın ¹³ C NMR Spektrumu.....	49
Şekil 4.24. Bileşik 16'nın HRMS Spektrumu.....	50
Şekil 4.25. Bileşik 17'nin Kimyasal Yapısı.....	50
Şekil 4.26. Bileşik 17'nin ¹ H NMR Spektrumu.....	51
Şekil 4.27. Bileşik 17'nin ¹³ C NMR Spektrumu.....	51
Şekil 4.28. Bileşik 17'nin HRMS Spektrumu.....	52
Şekil 4.29. Bileşik 18'in Kimyasal Yapısı.....	52
Şekil 4.30. Bileşik 18'in ¹ H NMR Spektrumu.....	53
Şekil 4.31. Bileşik 18'in ¹³ C NMR Spektrumu.....	53
Şekil 4.32. Bileşik 18'in HRMS Spektrumu.....	54
Şekil 4.33. Bileşik 19'un Kimyasal Yapısı.....	54
Şekil 4.34. Bileşik 19'un ¹ H NMR Spektrumu.....	55

Şekil 4.35. Bileşik 19'un ¹³ C NMR Spektrumu.....	55
Şekil 4.36. Bileşik 19'un HRMS Spektrumu.....	56
Şekil 4.37. Sentezlenen Bileşiklerin (11-19) A549 ve Hep3B Hücre Hatlarında Gösterdikleri IC ₅₀ µM Değerlerinin Kümelenmiş Sütun Grafiği	58
Şekil 4.38. Bileşik 11'in A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	58
Şekil 4.39. Bileşik 11'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	59
Şekil 4.40. Bileşik 12'nin A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	59
Şekil 4.41. Bileşik 12'nin Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	60
Şekil 4.42. Bileşik 13'ün A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	60
Şekil 4.43. Bileşik 13'ün Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	61
Şekil 4.44. Bileşik 14'ün A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	61
Şekil 4.45. Bileşik 14'ün Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	62
Şekil 4.46. Bileşik 15'in A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	62
Şekil 4.47. Bileşik 15'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	63
Şekil 4.48. Bileşik 16'nın A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	63
Şekil 4.49. Bileşik 16'nın Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	64
Şekil 4.50. Bileşik 17'nin A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	64
Şekil 4.51. Bileşik 17'nin Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	65
Şekil 4.52. Bileşik 18'in A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	65
Şekil 4.53. Bileşik 18'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	66
Şekil 4.54. Bileşik 19'un A549 Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	66

Şekil 4.55. Bileşik 19 'un Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi.....	67
Şekil 5.1. Kalkon Yapısındaki Halojenlerin Tür ve Sübstitüsyon Konumlarına Göre A549 ve Hep3B Hücre Hatlarındaki Sitotoksikite Karşılaştırmaları.....	69



TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Kalkonların Özellikleri Ve Bu Özelliklerin Kimyasal Ve Biyolojik Davranışa Etkilerinin Açıklanması.....	5
Tablo 2.2. Kalkonların Diğer Sentez Yöntemleri.....	7
Tablo 4.1. Sentezlenen Bileşiklerin IC ₅₀ Değerleri (IC ₅₀ µM ±SS).....	57



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrad Derece

Kısaltmalar

A549	İnsan Akciğer Adenokarsinom Hücre Hattı
AR	Androjen Reseptörü
BxPC-3	İnsan Pankreas Kanseri Hücre Hattı
BT-20	İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı
Br	Brom
¹³ C NMR	¹³ C Nükleer Manyetik Rezonans
CF ₃	Triflorometil
Cl	Klor
DMSO	Dimetil Sülfoksit
dk	Dakika
EtOAc	Etilasetat
EÇG	Elektron Çeken Grup
FBS	Fötal Sığır Serum
F	Flor
HCl	Hidroklorik Asit
¹ H NMR	¹ H Nükleer Manyetik Rezonans
Hep3B	İnsan Hepatoselüler Karsinom Hücre Hattı
HepG2	İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HUVEC	İnsan Göbek Kordonu Endotelyal Hücreleri
HRMS	Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
ISL	Isoliquiritigenin
IC ₅₀	Medyan İnhibitör Konsantrasyon
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
KOH	Potasyum Hidroksit

MCF-10A	İnsan Ölümsüzleştirilmiş Meme Epitel Hücre Hattı
MDA-MB-435	İnsan meme kanseri hücre hattı
mL	Mililitre
mmol	Milimol
M	Molar
MEM	Minimum Essential Medium
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
μ M	Mikromolar
μ l	Mikrolitre
Na ₂ SO ₄	Sodyum Sülfat
nm	Nanometre
PBL	İnsan Primer Periferik Kan Lenfositleri
SS	Standart Sapma

1.GİRİŞ

Kalkonlar veya 1,3-diaril-2-propen-1-on iskeletine sahip yapılar, iki aromatik halkanın üç karbonlu α , β - doymamış karbonil sistemi ile bağlandığı flavonoidlerin analoglarıdır ve flavonoid biyosentezinin öncülleridir (Katsori ve Hadjipavlou, 2009). Diğer bir ifade ile kalkonlar, reaktif bir ketoetilenik grup ($-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-$) içeren, konjuge çift bağlara ve her iki benzen halkasında tamamen delokalize edilmiş π -elektron sistemine sahip yapılardır.

Kalkon içeren birçok bitki geçmişten bu yana çeşitli hastalıklarda terapötik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kalkon içeren birçok bitki kanser gelişime karşı inhibisyon etki gösterdiği çalışmalarda rapor edilmiştir (Rudrapal ve ark., 2021).

Kalkonlar gibi fitokimyasalların ucuz olduğu, kolayca sentezlenebilmesi, nispeten toksik olmadığı antikanser aktivite dışında birçok farmakolojik aktiviteden sorumlu olacağı ve çok çeşitli mekanizmaları etkileyebileceği birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Üstelik metokalkon, sofalkon ve hesperidin metilkalkon klinik kullanım için onaylanmıştır (Ouyang ve ark., 2021). Kalkonların bu avantajları ve ilaç olabilme potansiyelleri, bilim insanları tarafından dikkat çekmiş ve kanser gibi tedavisi zor hastalıklar için de daha etkili potansiyel ilaçlar olarak tasarlanmalarını mümkün kılmıştır.

Tez çalışmamızda, 2-triflorometil kalkon yapısında; 2, 3 ve 4 pozisyonlarında flor, klor ve brom süstitüe edilmiş 9 adet kalkon bileşiğinin sentezlenmesi planlanmıştır. Sentezlenen bileşiklerden 3-Cl ve 3-Br daha önce sentezlenmiş olup diğer 7 kalkon türevi literatürde ilk kez sentezlenen orjinal moleküllerdir. Ayrıca 3-Cl ve 3-Br türevleri için literatürde daha önce yapılmış antikanser aktivite çalışması bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında belirlenen 9 kalkon türevi yüksek verim ve saflıkta sentezlenerek insan hepatoselüler karsinom hücre hattı (Hep3B) ve insan akciğer adenokarsinom hücre hattı (A549) üzerindeki antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Bu bakımdan triflorometil grubu ve bununla ilişkilendireceğimiz farklı pozisyonlarda halojen atomları içermesi, bu konuda halojenlerin, kalkon bazlı yeni ilaç moleküllerinin geliştirme çalışmalarındaki yeri ve etkinliğinin anlaşılacak olması bakımından önemlidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerden elde edilen sekonder metabolitler olan polifenolik fiyokimyasallardır (Fu ve ark., 2016). Bitki aleminde geniş yer alan flavonoidler meyvelerde, sebzelerde, çayda, şarapta, geleneksel tıbbi droglarda yaygın olarak bulunur (Constantinescu ve ark., 2021).

Flavonoidler, bitki gelişimi ve savunmasında önemli rol oynarlar. Bitkileri olumsuz çevre koşullarından koruyan güçlü antioksidanlardır (Kopustinskiene, ve ark 2020). Bitkileri UV ışınlarına, yüksek karbon düşük azot oranına, soğuk stresi, patojen enfeksiyonları ve böcek istilaları dâhil olmak üzere biyotik ve abiyotik streslerden kaynaklanan hasara karşı korurlar. Ayrıca sinyal molekülleri olarak hareket edip tozlanma için böcekleri çekebilir ve oksin metabolizmasına katabilirler. Bu özellikleri ile dikkat çeken flavonoidler, günümüze kadar 9000’ den fazla izole edilmiş, tanımlanmış ve sentezleri araştırılmıştır. (Liu ve ark., 2021; Tohge ve ark., 2017; Wang ve ark., 2020).

Flavonoidlerin temel moleküler yapısı A, B ve C olarak adlandırılan üç halka (C6-C3-C6) halinde düzenlenmiş 15 karbon atomuna sahiptir. Flavon (2- fenil-3,4- dihidro- 2H-1- benzopiron) flavonoid yapılarının temel iskeleti kabul edilir ve flavonoidler arasındaki sınıflandırmalardaki temel fark, çift C2-C3 bağı ve C4’ te bir karbonil grubunun varlığıdır (Naróg ve ark., 2023).Flavonoidlerin çok sayıda olması da, farklı pozisyonlarda ikame edicilerin (hidroksil, metoksil, metil, prenil ve glikozil) bulunma olasılığından kaynaklanmaktadır. Flavonoidler temel iskeletlerindeki değişikliklere göre 7 alt sınıfa ayrılır; flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavonoller, kalkonlar, auronlar ve antosiyanidinleri içerir. Bunlar arasında kalkonlar, diğer flavonoid bileşikleri ve polifenolik bileşiklerin öncüllerinden biridir (Chen ve ark., 2023).

2.1.1. Flavonoid Biyosentezi

Bitki ikincil metabolizmasının en iyi karakterize edilmiş yolu olan flavonoid biyosentezi, çok çeşitli fenolik bileşiklerin oluşumuna yol açan fenilpropanoid yolunun bir parçasıdır. Fenilpropanoid metabolizması, fenilalanin amonyak liyaz (PAL) enziminin fenilalanini alifatik zincirde deamine etmesiyle başlar ve bu işlem sonucunda trans-sinamik asit oluşur. Bu bileşik, daha sonra sinamat 4-hidroksilaz (C4H) ve 4-kumarat: koenzim A (CoA) ligaz (4CL) enzimleri tarafından p- kumaril- CoA'ya dönüştürülür. Bu merkezi ara ürün, lignin, fenolik asitler, fenolik glikozitler ve flavonoidler gibi pek çok ikincil metabolitin biyosentezinde rol alır (Ma ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2017).

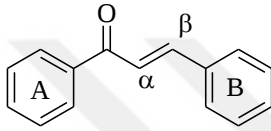
Bir p- kumaril -CoA ve 3 molekül malonil-CoA'dan bir poliketid ara maddesinin oluştuğu sıralı yoğunlaşma ve dekarboksilasyon reaksiyonlarını kalkon sentaz (CHs) ve kalkon izomeraz (CHI) katalize eder. Bu aşama flavonoid sentezindeki ilk adım olarak kabul edilir. Poliketid, A halkasının oluşumuna yol açan siklizasyonlara ve aromatisasyonlara uğrar. Bu reaksiyonlarda ortaya çıkan naringenin kalkon (2',4,4',6' - tetrahidroksikalkon), bir 6' hidroksikalkon bitkiler tarafından sentezlenen ilk flavonoiddir. Meydana gelen ana bisiklik C6-C3-C6 karbon iskeleti yapısına sahip bileşikler kalkon olarak adlandırılır. Flavonoidlerin çoğunluğu için tipik olan üç halkalı fenilkroman omurgasının oluşması için kalkonlar, kalkon izomeraz enzimi tarafından daha ileri düzeye dönüştürülür (Berim ve ark., 2015; Winkel-Shirley, 2001; Yonekura-Sakakibara, ve ark., 2019).

2.2. Kalkonlar

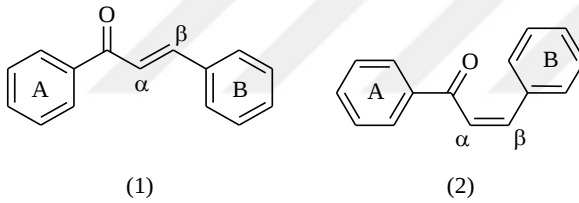
Kalkon kelimesi, Yunanca bronz anlamına gelen '*chalcos*' kelimesinden türetilmiştir (Sahu ve ark., 2012). Doğal renklendirici bileşiklerin sentezinde öncü çalışmalar yapan Kostanecki, 'kalkon' terimini ilk ortaya atandır (Padhye ve ark., 2009). Kalkonlar, flavonoid bileşiklerinin biyosentetik öncüllerini temsil eden lipofilik fitokimyasallardır (Constantinescu ve ark., 2021).

Genellikle çiçeklerdeki sarı pigmentler olarak bilinirler ve ayrıca *Angelica*, *Sophora*, *Glycyrrhiza*, *Humulus*, *Scutellaria*, *Parartocarpus*, *Ficus*, *Dorstenia*, *Morus*, *Artocarpus* vb. cinslerinin çeşitli kısımlarında (kökler, rizomlar, öz odun, tomurcuklar, yapraklar, çiçekler ve tohumlar) yaygın olarak dağılmışlardır (Rozmer Z., ve ark., 2014; Zhang ve

ark., 2013). Kimyasal olarak kalkonlar veya 1,3- diaril 2-propen-1-onlar, iki aromatik halkanın üç karbonlu, α , β - doymamış karbonil sistemi ile birleştiği açık zincirli yapılarıdır. Karbonil karbonuna bağlı fenil halkası A halkası, iki karbonlu doymamış yapıya bağlı olan fenil halkası B halkası olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.1) (Sahu ve ark., 2012). İki aromatik halka arasındaki bu konjuge bağın varlığı, cis (Z) ve trans (E) izomerlerini sağlar (Şekil 2.2). Trans izomer termodinamik olarak daha kararlıdır ve cis konformerine göre baskındır (Mphahlele, 2021). Geniş yapısal çeşitliliğe sahip olan kalkonlar kabaca iki kategoriye ayrılır: basit / klasik kalkon ve 1,3- diaril-2- propen-1-on'un çekirdek iskeletine sahip hibrit kalkonlar (Zhuang ve ark., 2017).



Şekil 2.1. 1,3 diaril-2-propen-1-on Yapısına Sahip Kalkonların Genel Kimyasal Yapısı.



Şekil 2.2. Kalkonların (1) Trans (E) ve (2) Cis (Z) İzomerleri

2.2.1. Kalkonların Kimyası

Kalkonlar nispeten yüksek lipofilisiteye sahip ($\log P \approx 5-7$), küçük, düşük molekül ağırlıklı (300-600 g/ mol aralığında), kiral olmayan moleküllerdir. Kromofor -CO-CH çift bağ CH-'in varlığının bir sonucu olarak, kalkonlar renkli bileşiklerdir (Rudrapal ve ark., 2021).

Kalkonlar, karbonil grubunda (1,2 - ilavesi) veya iyi bir Michael akseptörü olan β - karbonda (1,4- veya Michael katılması) nükleofillerle reaksiyona girme eğiliminde olan elektrofillerdir (Halpani ve ark., 2020; Mphahlele MJ. 2021).

Konjuge ketoetilenik iskele ve tamamen delokalize edilmiş π - elektron sisteminin ayrıca redoks potansiyellerini azalttığı ve kalkonları elektron transfer reaksiyonlarına yatkın hale getirdiği bilinmektedir (Singh., ve ark., 2014) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Kalkonların Özellikleri ve Bu Özelliklerin Kimyasal ve Biyolojik Davranışa Etkilerinin Açıklanması

Özellik	Açıklama
Nispeten yüksek lipofilisiteye sahiptirler. (log P $\approx$ 5-7)	Hücre zarını geçebilir ancak çözünürlük sınırlı olabilir.
Küçük, düşük molekül ağırlıklıdır. (300-600 g/ mol aralığında)	Hücre içine geçişini kolaylaştırır. Farklı biyolojik hedeflere kolayca bağlanabilmesini sağlayabilir.
Kiral olmayan moleküllerdir.	Kimyasal olarak kolayca değiştirilebilmesine imkan verir. Üretim, saflaştırma, maliyet ve analiz açısından kolaylık sağlar. Ancak, biyolojik hedefe özgüllük gerektiğinde bazı dezavantajları olabilir.
Kromofor -CO-CH=CH- mevcuttur.	Renkli bileşiklerdir.
Kalkonlar, karbonil grubunda veya iyi bir Michael akseptörü olan β -karbonunda nükleofillerle reaksiyona girme eğiliminde olan elektrofillerdir.	Bu çok yönlü ve reaktif olmasını sağlar.
Konjuge ketoetilenik iskele ve tamamen delokalize edilmiş π - elektron sistemine sahiptirler.	Redoks potansiyellerini azalttığı ve kalkonları elektron transfer reaksiyonlarına yatkın hale getirdiğini gösterir.

Kalkonların 1,3- dielektrofilik sistemler olması, düşük moleküler ağırlığı, uygun verimli sentezi ve uygun ikame edicilerle lipofilikliğin kolay optimizasyonu gibi avantajlarıyla uzun zamandır kombinatorial ve çeşitlilik odaklı sentezde yapı taşları olarak kapsamlı çalışılmış ve hastalıkların ilaç keşfinde önem kazanmıştır (Thapa ve ark., 2021). Aynı

zamanda konjuge sistemleri nedeniyle, aromatik halkalar üzerinde uygun elektron çeken ve elektron veren fonksiyonel gruplarına sahip kalkonlar floresan özellik gösterebilmekte, bu da onları mekanik incelemeler ve görüntüleme/ teşhis için potansiyel kimyasal problemler haline getirebilir (Ono ve ark., 2010).

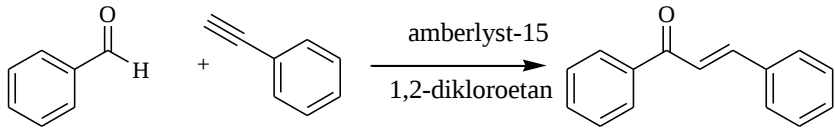
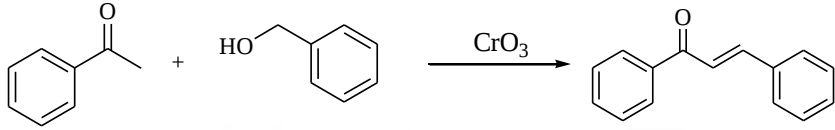
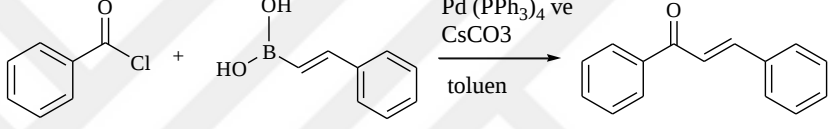
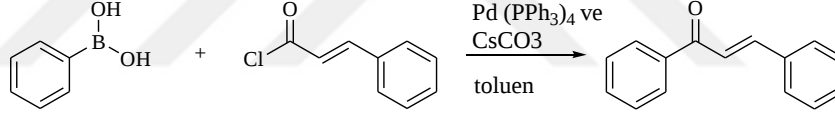
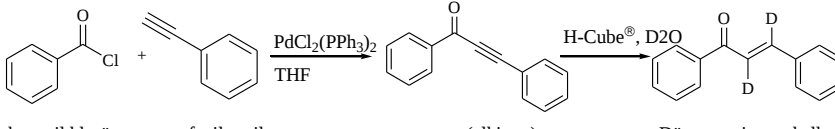
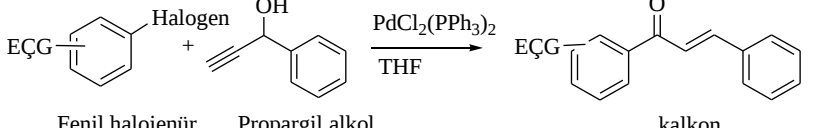
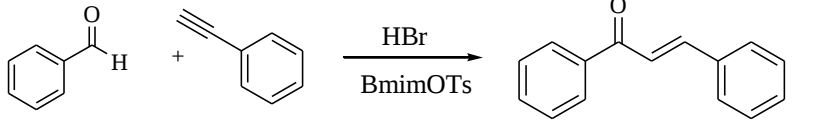
2.2.2. Kalkonların Sentezi

Kalkonlar, kolay sentezlenmesi ile çok sayıda modifikasyona olanak tanıyan basit bir kimyaya sahiptir. Günümüzde, kalkon türevlerinin sentezi için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerin her birinde, en önemli adım, kalkon iskeletini elde etmek amacıyla nükleofilik ve elektrofilik gruplar içeren iki aromatik sistemin kondenzasyonudur.

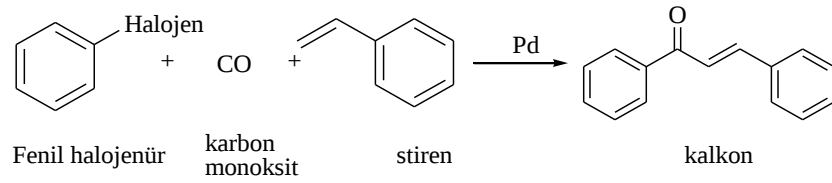
Ayrıca, kalkonlar çok sayıda yer değiştirilebilir hidrojene sahip olduğundan, kalkon türevlerinin sentezinde çeşitli yöntem ve şemaların kullanılmasına olanak tanır. Kalkonların sentezi için bilinen birçok sentez yöntemi vardır. En çok kullanılan yöntem alkol içerisinde alkali varlığında aril metil keton ve aril aldehitin Claisen Schmidt kondenzasyonudur.

Kalkonlar, kolay sentezlenebilmelerine rağmen, çeşitli biyolojik aktivitelerinin açığa çıkmasıyla birlikte, çeşitli katalizör ve reaksiyon koşulları geliştirilerek giderek artan sayıda yeni teknikler ve prosedürler ile sentezlenebilmektedir (Tablo 2.1). Kalkon iskeletlerinin sentezinde kullanılan sentetik stratejiler, genel metodolojiler, katalizörler ve koşullar Tablo 2.1.'de özetlenmiştir (Mahapatra ve ark., 2015; Zhuang ve ark., 2017).

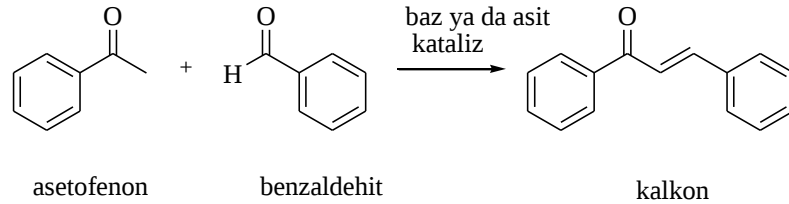
Tablo 2.2. Kalkonların Diğer Sentez Yöntemleri

Reaksiyon İsmi	Reaksiyon Şeması
Katı Asit Katalizörlü Reaksiyon	 benzaldehit + fenilasetilen $\xrightarrow[1,2\text{-dikloroetan}]{\text{amberlyst-15}}$ kalkon
Tek Kademe (One-Pot)	 asetofenon + fenilmetanol $\xrightarrow{\text{CrO}_3}$ kalkon
Suzuki-Miyaura Coupling Reaksiyonu	 benzoil klorür + stiril boronik asit $\xrightarrow[\text{toluen}]{\text{Pd(PPh}_3)_4 \text{ ve CsCO}_3}$ kalkon
	 fenil boronik asit + sinamoil klorür $\xrightarrow[\text{toluen}]{\text{Pd(PPh}_3)_4 \text{ ve CsCO}_3}$ kalkon
Sürekli Akışla Deuterasyon Reaksiyonu	 benzoil klorür + fenilasetilen $\xrightarrow[\text{THF}]{\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2}$ ynone (alkinon) $\xrightarrow{\text{H-Cube}^\circ, \text{D}_2\text{O}}$ Döteryum içeren kalkon
Sonogashira İzomerizasyon Coupling Reaksiyonu	 Fenil halojenür + Propargil alkol $\xrightarrow[\text{THF}]{\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2}$ kalkon
Coupling Reaksiyonu	 benzaldehit + fenilasetilen $\xrightarrow[\text{BmimOTs}]{\text{HBr}}$ kalkon

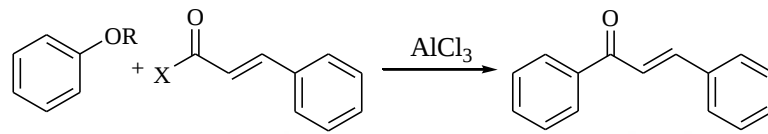
Heck Coupling Reaksiyonu



Claisen-Schmidt Kondenzasyonu



Friedel-Craft Açılması



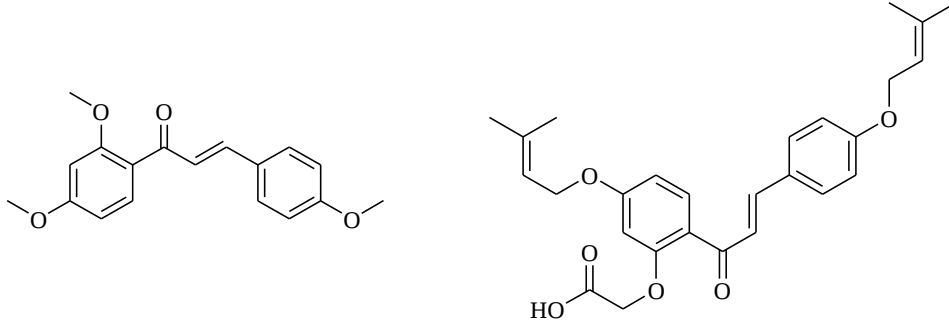
(EÇG: elektron çeken grup.)

2.2.2.1. Claisen-Schmidt Kondenzasyonu

Kalkonların sentezinde kullanılan en yaygın yöntemdir. Kalkonlar; benzaldehit ve asetofenon türevlerinin, sıvı bir çözücü içinde, bazik veya asidik katalizör varlığında, 50–100 °C’de birkaç saat boyunca kondenzasyonu ile elde edilir. Bu reaksiyon, α -hidrojen içeren bir aldehit veya keton ile α -hidrojen içermeyen aromatik bir karbonil molekülü arasında meydana gelir. Gıda, ilaç ve bazı özel amaçlı kimyasallar endüstrilerde Claisen Schmidt reaksiyonu yoluyla sentezlenmektedir. Baz katalizörü olarak NaOH ile aseton ve benzaldehitten benzalaseton sentezi buna örnek olarak gösterilebilir (Gomes ve ark., 2017; Sun ve ark., 2022).

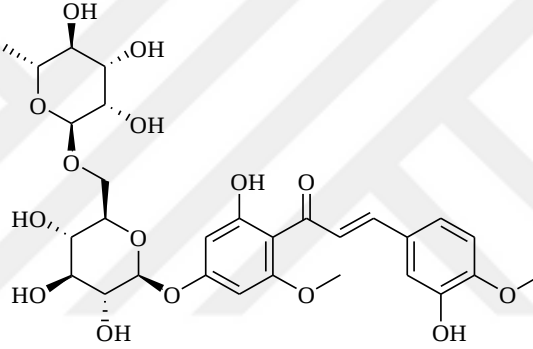
2.3. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri

Kalkonlar gibi fitokimyasalların ucuz olduğu, kolayca bulunabildiği ve nispeten toksik olmadığı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu durum son yıllarda doğal ve sentetik kalkon türevlerinin farmakolojik özelliklerini keşfetmek için çok sayıda çalışma yürütülmesine neden olmuştur. Üstelik kalkon bazlı bileşikler olan; metokalkon, koleretik/diüretik olarak, sofalkon, anti-ülser/mukoprotektif ve hesperidin metilkalkon vasküler koruyucu olarak klinik kullanım için onaylanmıştır (Şekil 2.3). Bu durum kalkonların klinik potansiyellerini örneklendirmektedir (Ouyang ve ark., 2021).



metokalkon

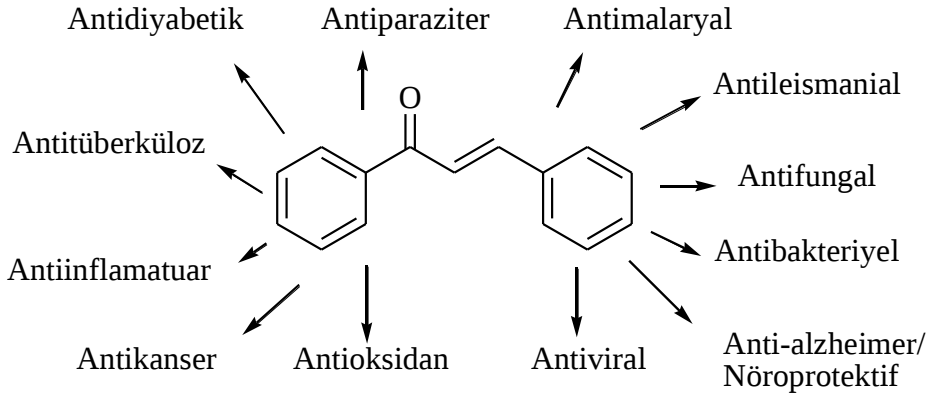
sofalkon



hesperidin metilkalkon

Şekil 2.3. Klinik Olarak Onaylanmış Kalkonlar

Kalkonlar ve türevleri üzerinde yapılan klinik öncesi çalışmalar, bunların antidiyabetik (Welday Kahssay ve ark., 2021), antiinflamatuvar (Guazelli ve ark.,2021) , antibakteriyel (Amole ve ark., 2019), antifungal (Gupta ve ark., 2015), antiviral (Duran ve ark., 2021), antitüberküloz (Gomes ve ark., 2017), antiparaziter (Tajuddeen ve ark., 2018), antimalaryal ve antileismanial (Liu ve ark., 2003), antioksidan (Jadhav ve ark., 2013) antialzheimer/nöroprotektif (Barber ve ark., 2023), ve antikanser ajanlar (Al Zahrani ve ark., 2020) olarak yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri

2.4. Kalkonların Bazı Aktivite Mekanizmaları

Çeşitli doğal, sentetik veya yarı sentetik kalkonlar, farklı biyolojik hedeflere karşı gösterdikleri etkiler sayesinde önemli tıbbi biyolojik aktiviteler sergilemiştir (Batovska ve ark., 2010). Güçlü antiinflamatuvar etkilerinin ise lipo-oksijenaz (LOX), siklooksijenaz (COX), interlökinler (IL), nitrik oksit sentaz, prostaglandinler (PGs) gibi çeşitli hedeflerin inhibisyonuna bağlı olduğu önerilmektedir (Kar Mahapatra.ve ark., 2019). Ayrıca kalkon molekülleri, Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4), Peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör gama (PPAR- γ), α -glukozidaz ve doku duyarlılığını modüle ederek antidiyabetik etkiler göstermektedir. Potansiyel antiviral aktiviteleri de gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), topoizomeraz-II, fumarat redüktaz, laktat dehidrogenaz, çeşitli protein kinazlar, protein tirozin fosfataz, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) integras/proteaz, laktat/izositrat dehidrogenaz gibi çeşitli hedefler üzerinden göstermektedir (Elkhalfa ve ark., 2021; Mahapatra ve ark., 2015).

Kalkon türevli bileşiklerin kanserli hücreler üzerinde çeşitli etki mekanizmaları tanımlanmıştır. Bu mekanizmalar arasında apoptozis indüksiyonu, DNA ve mitokondriyal hasarın oluşturulması, anjiyogenezin inhibisyonu, tubulin ve kinaz inhibisyonu ile ilaç effluks proteinlerinin aktivitelerinde değişiklik yer almaktadır (Rizeq ve ark., 2021). Ayrıca, kalkonlar P-glikoprotein (P-gp), aromataz, 5 α -redüktaz, proteazom, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi önemli faktörleri hedef alarak etkilerini gösterir. Bunun yanı sıra, ATP bağlayıcı kaset alt ailesi G üyesi 2 (ABCG2), meme kanseri dirençli protein (BCRP), aktive edilmiş nükleer B hücresi büyüme faktörü (NF- κ B), tirozin kinaz reseptörleri (epidermal büyüme faktörü reseptörü

(EGFR) ve mezenkimal epitelyal geçiş faktörü (MET) gibi çeşitli hedefler üzerinde de etki gösterir. Bu sayede, kalkan türevleri hem tedaviye duyarlı hem de dirençli kanser türlerinde in vitro ve in vivo önemli antikanser aktiviteler sergiler (Gao ve ark., 2020; Rizeq ve ark., 2021).

2.5. Antikanser Aktiviteye Sahip Bazı Doğal ve Sentetik Kalkonlar

Dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan kanser, genel olarak insanlık için büyük bir sosyoekonomik tehlike oluşturmaktadır. Kanser birçok mekanizma tarafından tetiklenen bir hastalıktır ve önemli bir halk sağığı sorunudur. Kanser tedavisi ve önlenmesinde ilerlemeler olmasına rağmen, kanserin başarılı tedavisi hala zorlu bir iştir. Bu sebeple bilim insanları daha güvenli ve antikanser spektrumu daha geniş olan bileşikler sentezleme yollarına gitmişlerdir.

Özellikle kalkonlar, antikanser terapötik ajanların geliştirilmesi için büyük bir ilgi alanına sahiptir. Bu bileşiklerin avantajları, sayısız biyolojik özellikleri, yan etkilerinin olmaması, kolayca elde edilebilmeleri ve temel yapılarını değiştirerek çok sayıda biyolojik olarak aktif bileşik oluşturabilmeleri ile ilgilidir. Ayrıca kalkonlar, yeni antikanser bileşiklerinin tanımlanması için bir başlangıç noktası oluşturabilmektedir. Kalkan yapılarının antikanser aktivite özelliğı, aromatik halkalara ve onlara bağılı yan grupların içeriğıne bağılı olarak değışmektedir. Yapılarına eklenebilen çeşitli fonksiyonel gruplar (aril, halojen, hidroksil, karboksil ve fenil gibi) sayesinde farklı moleküler hedeflere bağlanabilme ve diğerk moleküllerle etkileşim kurabilme yeteneğı göstererek geniş bir biyolojik aktivite spektrumu sergilerler. Doğal ve sentetik kalkonlar, in vivo ve in vitro antitümör özelliklere sahiptir ve ayrıca ilaca dirençli kanserlerde aktif biyolojik etki gösterebilmektedir (Constantinescu ve ark., 2021).

Kalkonların temel yapısında bulunan α,β -doymamış karbonil fonksiyonel grubunun, molekülün çok yönlü biyolojik aktivitelerinde kritik bir rol oynadığı düşünölmekte olup, bu yapı korunarak A ve B halkalarında gerçekleştirilen modifikasyonlarla pek çok yeni biyoaktif kalkan türevi sentezlenmiştir. Bu modifikasyonlar arasında, her iki halkanın farklı heteroarillerle ikame edilmesi, fenil halkalarında hidroksi, metoksi, halojen ve amin gibi çeşitli fonksiyonel gruplarla yapılan ikameler ile A ve α -karbon halkalarının füzyonu gibi yapısal değışiklikler öne çıkmaktadır. Moleküler hibridizasyon stratejisi

(i) Kalkonların iki aromatik kalıntısının (aldehit ve asetofenon), çeşitli fonksiyonel gruplarla (Hidroksi, metoksi, halojenler (F,Cl, Br), aminler vb.) modifikasyonu

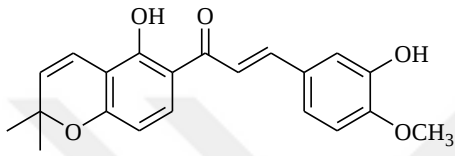
(ii) Aromatik halkaların heteroaromatik yapılarla değiştirilmesi,

(iii) Antitümör özelliklere sahip diğer moleküllerle konjugasyon yoluyla hibrit bileşiklerin elde edilmesidir.

Oc1ccc(cc1)/C=C2C(=O)C(O)=C(O)C=C2

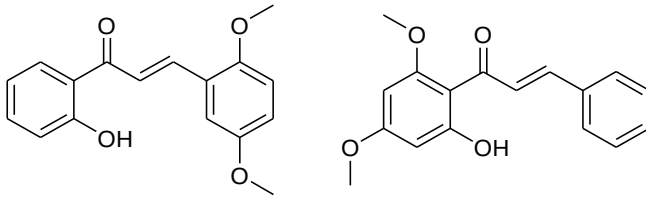
12

lenfositleri (PBL) üzerindeki sitotoksitesine bakılmıştır. Hücreler, 72 saatlik sürekli bir SL4 uygulamasına maruz bırakıldı. Hep3B ve MDA-MB-435 hücrelerinin SL4 (0.1–100 μM) uygulamasında IC_{50} değerleri sırasıyla 6.1 ± 1.2 ve 8.4 ± 1.5 μM olarak belirlenmiştir. Normal insan hücreleri olan MCF-10A, HUVEC ve PBL için IC_{50} değerleri sırasıyla 16.9 ± 2.4 , 17.2 ± 3.5 ve 226.0 ± 9.9 μM olarak ölçülmüştür. Normal hücreler için ortalama IC_{50} değeri 86.7 μM olup, bu değer kanser hücrelerine kıyasla 11.9 kat daha yüksektir. Bu veriler, SL4'ün insan malign hücrelerine karşı daha toksik, normal insan hücrelerine karşı ise daha az toksik olduğunu göstermektedir (Wang ve ark., 2015).



Şekil 2.6. SL4 Moleküler Yapısı

Pawlak ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışma, 2'-hidroksi-2,5-dimetoksikalkon'un (4, IC_{50} : 9.76-40.83 μM) ve 2'-hidroksi-4',6'-dimetoksikalkon (5, IC_{50} : 9.18–46.11 μM), bir köpek lenfoması ve lösemi hücre hatları panelinde antiproliferatif ve proapoptotik aktivite sergilediğini bulmuşlardır (Şekil 2.7). Bu metoksillenmiş kalkon çalışmaları, aromatik halkalar üzerindeki metoksi süstitüsyonlarının sayısı ve konumunun sitotoksitede önemli roller oynadığını göstermişlerdir (Pawlak ve ark., 2020).

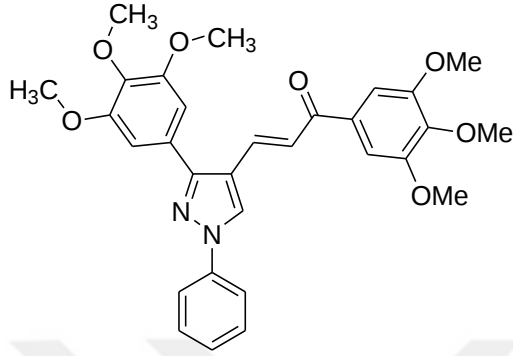


2'-hidroksi-2,5-dimetoksikalkon 2'-hidroksi-4',6'-dimetoksikalkon

Şekil 2.7. Metoksikalkon Türevi Olan Bileşikler

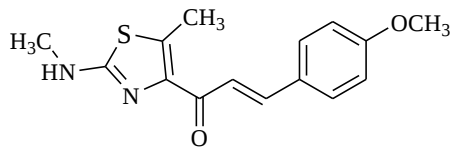
Molekülünde bir pirazol bulunan bir dizi kalkon sentezlenmiş ve A549 hücre hatları üzerinde antikanser potansiyelleri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Asetofenon üzerinde bir trimetoksifenil ile süstitüe edilen bileşik en aktif olarak raporlanmış, antikanser potansiyeli mikromolar konsantrasyonlarda mevcut olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.8). Elde edilen sonuçlarda molekülde bir trimetoksifenil olan pirazollerin antikanser,

antiproliferatif ve antitübülün özellikleri farmakolojik aktivitelerini gösteren literatürdeki verilerle uyumlu olduğunu raporlamışlardır (Prasad ve ark., 2017).



Şekil 2.8. Prasad ve ark. Tarafından Sentezlenen, A549 Hücre Hattında En Aktif Olan Trimetoksifenil Pirazol İçeren Bileşik.

Farghaly ve arkadaşları, bir dizi tiyazol kalkon sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiklerin antiproliferatif aktivitesi, HepG2, A549 ve MCF-7 hücre hatlarında incelenmiştir. Sentezledikleri 3-(4-Metoksifenil)-1-(5-metil-2(metilaminotiazol-4-il)prop-2-en-1-on) bileşiği, doksorubisine göre üstün antikanser ve geniş bir aktivite yelpazesine sahip olduğunu göstermişlerdir (Şekil 2. 9). Bu kalkon, HepG2, A549 ve MCF-7 hatlarında sırasıyla $IC_{50} = 1.56, 1.39$ ve $1.97 \mu M$ 'ye sahip ve bu değerlerin doksorubisin değerlerinin yarısı olduğunu raporlamışlardır (sırasıyla $IC_{50} = 3.54, 3.19$ ve $4.39 \mu M$) (Farghaly ve ark., 2020).



3-(4-Metoksifenil)-1-(5-metil-2(metilaminotiazol-4-il)prop-2-en-1-on

Şekil 2.9. Farghaly ve ark. Tarafından Sentezlenen Tiyazol Kalkon Bileşiği

2.5.1. Halojen Süstitüe Yapıların İlaç Tasarımındaki Rolü

Halojenli bileşikler, ilaç geliştirme sürecinde uzun bir geçmişe sahiptir. Bu yaklaşıma erken örneklerden biri, 1949'da antibiyotik olarak tanıtılan kloramfenikoldür. Daha yakın dönemde ise, kanser tedavisinde insan klinik denemelerine giren flavopiridol (HMR 1275) adlı klorlanmış bir CDK2 inhibitörü, bu sınıfa örnek olarak verilebilir.

Başlangıçta halojenlerin (özellikle Cl, Br ve I) ilaç moleküllerine dâhil edilmesi genellikle deneme-yanılma yöntemiyle gerçekleşmiştir. Ancak günümüzde, halojenlerin rasyonel tasarım stratejileri çerçevesinde seçilerek entegre edildiği görülmektedir. Bu stratejiler, molekülün membran geçirgenliğini artırmak, bağlanma ceplerindeki boşlukları doldurmak ve hedef proteinle etkileşimini güçlendirmek gibi amaçlara yöneliktir. Örneğin, promazin ve perazin bileşiklerine klor eklenmesiyle elde edilen klorpromazin ve klorperazin, hücre zarından geçiş hızını ortalama iki kat artırmaktadır.

Halojenlerin ilaç tasarımındaki en dikkat çekici katkılarının biri ise, halojen bağları (X-bağları) yoluyla hedef proteinlerle kurulan yönlü ve kararlı etkileşimlerdir. Bu bağlar, halojen atomlarının anizotropik yük dağılımı sayesinde elektron bakımından zengin bölgelerle gerçekleşir. Özellikle brom ve iyot, X-bağı oluşturmada daha etkilidir. Bu bağlar, ilaç-hedef etkileşimlerinin özgüllüğünü ve kararlılığını artırmada önemli rol oynar (Ford ve ark., 2016).

Flor hâlâ en yaygın kullanılan halojen olsa da, son yıllarda flor içeren bileşiklerin oranında azalma gözlenmiş, buna karşılık daha ağır halojenler olan klor, brom ve iyot içeren bileşiklerin oranı belirgin şekilde artmıştır. Bu artış, söz konusu halojenlerin güçlü X-bağı oluşturma kapasiteleriyle ilişkilidir. Nitekim, halojenli ilaçların geliştirme sürecinin başında %40 civarında olan Cl, Br ve I içeren bileşik oranı, ilaçların piyasaya sunulma aşamasında %60'ın üzerine çıkmaktadır (Xu ve ark., 2014). Bu değişim, X-bağlarının ilaç-protein etkileşimlerinde oynadığı aktif rolün giderek daha fazla benimsenmesiyle açıklanmaktadır.

Florun kimyasal bileşiklerdeki en dikkat çekici özelliklerinden biri, halojenler arasında en yüksek elektronegatifliğe sahip olmasıdır. Bu özelliği sayesinde flor, bağlı bulunduğu moleküllerin bağlanma etkileşimlerini, metabolik stabilitesini, fiziksel özelliklerini ve

seçici reaktivitesini büyük ölçüde etkiler. Özellikle flor atomunun yerine farklı grupların konulması, bileşimin biyolojik aktivitesinde belirgin değişimlere yol açabilir. C–F bağının, C–H bağından daha güçlü olması nedeniyle, bu bağ karbon merkezini çeşitli nükleofilik saldırılara karşı koruyacak kadar kısadır. Aynı zamanda florun yüksek elektronegatifliği, C–F bağına sahip karbon merkezinin oksidasyona karşı dirençli olmasını sağlar. Flor atomunun Van der Waals yarıçapının hidrojeninkiyle benzer olması, onun moleküler yapıya entegre edilmesini kolaylaştırırken, bileşiklerin farmakokinetik özelliklerini; emilim, dağılım, metabolizma ve atılımı iyileştirir. Bununla birlikte, flor içeren yapılar yan etki potansiyelini azaltabilir ve hedef reseptörler ile enzimlere bağlanma afinitesini artırarak biyolojik etkinliği güçlendirebilir. Bu nedenlerle flor, ilaç tasarımı ve geliştirme süreçlerinde oldukça değerli bir yapı modifikat r  olarak öne çıkmaktadır (Burmaoglu ve ark., 2019; Hagmann WK, 2008).

Sonuç olarak, halojenlerin ilaç tasarımındaki kullanımı artık yalnızca pasif katkılarla sınırlı değildir; aktif, yönlü ve hedefe yönelik etkileşim stratejileri çerçevesinde değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, halojenlerin neden olabileeği toksisite ve hedef dışı etkiler göz önünde bulundurulmalı ve ilaç tasarımı sürecinde dikkatle ele alınmalıdır (Ford ve ark., 2016).

Bir dizi çalışmada, insan cathepsin L inhibitörüne halojen bağları oluşturabilen Cl, Br ve I gibi halojenlerin eklenmesiyle, hedefe bağlanma gücünün belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu halojenler, inhibitörün fenil halkasına yerleştirilmiş ve bağlanma bölgesindeki polar S3 cebinde bulunan Gly61'in peptid oksijeniyle uygun geometrilerde halojen bağları kurmuştur. Bu yeni etkileşimler sayesinde inhibitörün IC₅₀ değeri, halojen eklenmemiş durumda 0.29  M iken, Cl ile 0.022  M, Br ile 0.012  M ve I ile 0.0065  M'ye kadar düşmüştür. Buna karşılık, yüksek elektronegatifliğe sahip olan F, Gly61'in oksijen atomunu iterek bağlanmayı zayıflatmış ve IC₅₀ değerini artırmıştır. Ayrıca, bromun hacimsel ve hidrofobik özelliklerini taklit eden metil grubu eklendiğinde IC₅₀ sadece hafif bir şekilde azalmış (0.13  M), bu da halojen bağlarının sağladığı katkının basit sterik ve hidrofobik etkilerden çok daha önemli olduğunu ortaya koymuştur (Hardegger ve ark., 2011).

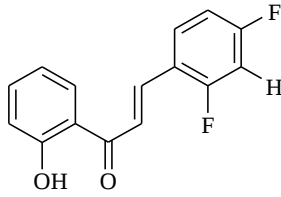
Hardegger ve arkadaşlarının paralel bir çalışmasında, MEK1 kinazının apolar bağlanma cebi içindeki halojen bağlarının potansiyel etkileri incelenmiştir. Çalışmada, F içeren

bileşiğin daha yüksek IC₅₀ değerleri gösterdiği ve Cl, Br ve I içeren bileşiklerde IC₅₀ değerlerinin sistematik olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Her durumda, halojenin Val127'nin karbonil oksijeniyle yaptığı etkileşim ortogonal H-X bağı türündeydi. Ancak, klor için bu etkinin daha az belirgin olduğu ve IC₅₀'de yaklaşık 2 katlık bir azalma görüldüğü bulunmuştur. Bunun, inhibitörün bağlanma cebindeki esnekliği ve halojen bağı için ideal olmayan geometrilere yol açması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Ayrıca çalışmalar, polar ve apolar ortamlarda, halojen bağlarının geometrisinin, halojenlerin bağlanma afinitesindeki etkilerinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir (Hardegger ve ark., 2011).

C–F bağları, biyolojik olarak aktif bileşiklerde sıklıkla C–H veya C–OH bağlarının yerine kullanılır. Bu ikameler molekülün fizikokimyasal özelliklerini değiştirirken büyük sterik değişiklik oluşturmaz. Bu yüzden biyolojik aktivitelerde olumlu değişiklikler genellikle bu ikamelerden kaynaklanır. Nakamura ve arkadaşları tarafından sentezlenen florlanmış kalkon türevlerinin RBL-1 üzerindeki 5-LO inhibe edici etkisi, sıçan karaciğer mikrozomlarında Fe³⁺-ADP kaynaklı NADPH'ye bağlı lipid peroksidasyonunu önleyici etkisi ve 39 insan kanser hücre hattından oluşan bir panel üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Tüm florlu kalkon türevleri, 1.1 µM ile 0.011 µM konsantrasyon aralığında doza bağlı 5-LO inhibisyonu göstermiştir. Florlu bileşiklerin IC₅₀ değerleri 0.12 µM ile 0.043 µM arasında değişirken, flor içermeyen bileşik için bu değer 0.04 µM olarak bulunmuştur. Florlanmamış kalkon ve florlanmış türevler, test edilen üç hücre hattında hücre proliferasyonunu baskılamıştır. Bu bileşiklerden özellikle yedi tanesi, MCF-7 ve SF-268 hücreleri üzerinde güçlü antikanser etki göstermiştir (Nakamura ve ark., 2002).

2.5.2. Halojen veya Triflorometil Grubu İçeren Kalkonların Antikanser Aktiviteleri

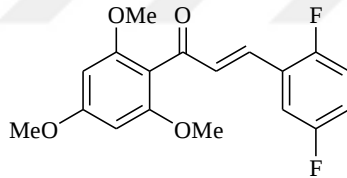
Padhy ve arkadaşları sentezledikleri florlu kalkonların (IC₅₀: 18.67 µM ve 26.43 µM) (Şekil 2.10), BxPC-3 hücrelerine ve BT-20 hücrelerine karşı hidroksil muadillerinden (IC₅₀: 68.62 µM ve 52.92 µM) daha güçlü antioksidan ve antiproliferatif aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Padhy ve ark., 2010).



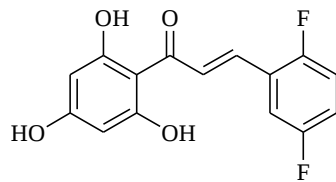
1-(2-hidroksifenil)-3-(2,4-diflorofenil)prop-2-en-1-on

Şekil 2.10. Padhy ve ark. Sentezledikleri Florlu Kalkonlardan 1-(2-Hidroksifenil)-3-(2,4-diflorofenil)prop-2-en-1-on Bileşiği.

Başka bir çalışmada, B halkasında flor atomu içeren yeni bir dizi kalkon tasarlanmış. Özellikle (E)-3-(2,5-diflorofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on ve (E)-3-(2,5-diflorofenil)-1-(2,4,6-trihidroksifenil)prop-2-en-1-on numaralı bileşikler, HepG2 (0.060 ve 0.068 μ M) hücre hattına karşı yüksek özgüllük ve etki göstermiştir (Şekil 2.11). Yapısal analizler, 2,5-diflor substitüentlerinin A549 ve A498 hücre hatlarında etkinliği artırdığını ortaya koymuştur. Bu bileşiklerin apoptozu indükleyerek hücre döngüsünü bozduğu, moleküler düzeyde ise tübülün proteinine bağlanarak mitotik iğ oluşumunu engellediği belirlenmiştir (Burmaoğlu ve ark., 2020).



(E)-3-(2,5-diflorofenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on

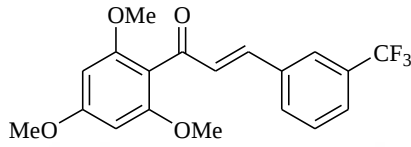


(E)-3-(2,5-diflorofenil)-1-(2,4,6-trihidroksifenil) prop-2-en-1-on

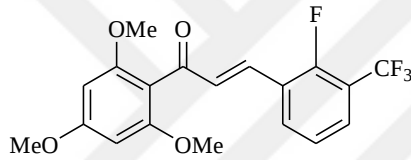
Şekil 2.11. B Halkasında 2,5-difloro İçeren, A Halkasında 2,4,6-trimetoksi ve 2,4,6-trihidroksi İçeren Kalkon Bileşikleri.

Polat ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, B halkasının çeşitli pozisyonlarına CF_3 veya F grupları yerleştirilmiş yeni bir trimetoksi kalkon serisi tasarlayıp sentezlemişlerdir. A549, HEPG2, MCF7 ve normal fare fibroblast (L929) hücre hatlarına karşı XTT testi kullanılarak sitotoksiteleri açısından test etmişlerdir. Sentezledikleri

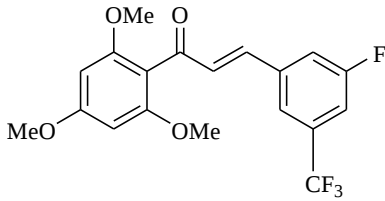
bileşiklerden sırasıyla μM cinsinden, bileşik 3-(3-(Triflorometil)fenil) içeren (17.58 ± 0.1 , 15.38 ± 1.1 , 7.09 ± 1.2), bileşik 3-(2-Floro-3-(triflorometil)fenil) içeren (13.90 ± 0.9 , 16.52 ± 0.6 , 5.91 ± 1.3) ve bileşik 3-Floro-5-(triflorometil)fenil içeren (10.00 ± 1.4 , 9.54 ± 0.9 , 39.32 ± 1.8) sırasıyla A549 ve HEPG2 hücre hatları için en etkili antikanser bileşikler olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.12). Ayrıca 3-(3-(Triflorometil)fenil) ve 3-(2-Floro-3-(triflorometil)fenil) içeren bileşikler, MCF7 hücre hattı için de en aktif antikanser bileşikler olduğunu belirtmişlerdir (Polat ve ark., 2023).



(E)-3-(3-(Triflorometil)fenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on



(E)-3-(2-Floro-3-(triflorometil)fenil)-1-(2,4,6-trimethoksi-fenil)prop-2-en-1-on



(E)-3-(3-Floro-5-(triflorometil)fenil)-1-(2,4,6-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on

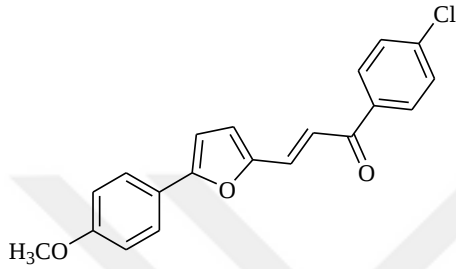
Şekil 2.12. Polat ve ark. Tarafınfan Sentezlenen Triflorometil ve Flor Sübstitüeli Bileşikler

Solomon ve arkadaşları, sentezledikleri heteroaril kalkonları MDA-MB468 ve MDA-MB231 hücreleri üzerinde test etmişlerdir.

Furan kalkonu bileşiği $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClO}_3$ (Şekil 2.13), fenil halkasında 4- CF_3 grubunun 4-kloro grubu ile biyoizotetik yer değiştirmesinden türetilen bileşik, hem MDA-MB231 hem de MDA-MB468 üzerinde önemli ölçüde artan antiproliferatif aktivite göstermiş, bununla birlikte, kanserli olmayan 184B5 meme hücreleri üzerinde çok düşük antiproliferatif

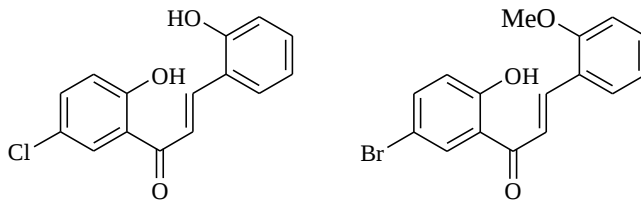
aktivite göstermiştir. 3-bromo-4-floro gibi dihalo grupların eklenmesi, her iki hücre hattında da aktiviteyi düşürdüğü ancak 2,4-dikloro içeren bileşiğin MDA-MB231 hücrelerinde hafif bir artış sağladığını göstermişlerdir.

Ek olarak, fenil halkasının dördüncü konumunda floro, kloro ve bromo sübstitüelerini içeren kalkon bileşikler, MDA-MB468 kanser hücrelerinde kloro > bromo > floro şeklinde sırayla artan anti-proliferatif aktivite göstermişlerdir (Solomon ve ark., 2012).



Şekil 2.13. Sentezledikleri Furan Kalkon Bileşiği C₂₀H₁₅ClO₃

Sentezlenmiş flavonoid türevleri arasından, 1 µM'den düşük konsantrasyonda doğrudan AR bağımlı transkripsiyonel aktivasyonu inhibe eden iki flavonoid ve dört kalkon bileşiği keşfedilmiştir. 5'-Kloro-2,2'-dihidroksikalkon ve 5'-bromo-2'-hidroksi-2-metoksikalkon, androjen bağımsız prostat kanseri (PCa), akciğer, üçlü negatif meme kanseri, taksan dirençli PCa ve çoklu ilaç dirençli bir alt seri dahil olmak üzere çeşitli tümör hücre hatlarına karşı 10 µM konsantrasyonda geniş spektrumlu antiproliferatif etkiler göstermiştir (Şekil 2.14). Bileşikler 5'-Kloro-2,2'-dihidroksikalkon ve 5'-bromo-2'-hidroksi-2-metoksikalkon, düşük mikromolar seviyelerde AR-bağımlı transkripsiyonu ve büyüme uyarımını baskılamış ve 5–10 µM seviyelerinde AR-bağımsız olarak antiproliferatif aktivite sergilemiştir. Ayrıca, kalkon 5'-Kloro-2,2'-dihidroksikalkon'un hayvan çalışmasında antitümör ajan olduğu gösterilmiştir (Saito ve ark., 2018).

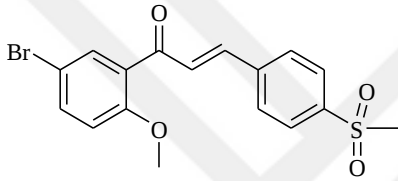


5'-Kloro-2,2'-dihidroksikalkon

5'-bromo-2'-hidroksi-2-metoksikalkon

Şekil 2.14. 5'-kloro-2,2'-dihidroksikalkon ve 5'-bromo-2'-hidroksi-2-metoksikalkon

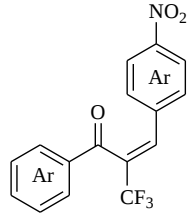
Bir çalışmada entezlenen 20 bromlu kalkon türevi, dört insan tümör hücre hattında test edilmiş, H72 adlı bileşik özellikle mide kanseri hücre dizilerine (MGC803, HGC27, SGC7901) karşı güçlü sitotoksik etki göstermiştir (IC_{50} : 3,57–5,61 μ M) (Şekil 2.15). H72, normal mide epitel hücrelerine (GES-1) karşı düşük toksisite ile seçici davranmıştır. H72'nin in vivo uygulaması, farelerde MGC803 ksenograft tümörlerini belirgin şekilde küçültmüş, toksisite gözlenmemiştir. Yapısal-aktivite ilişkileri, B halkasında 6'-OMe grubu taşıyan bileşiklerin daha etkili olduğunu göstermiştir. A halkasındaki 4-halojenli türevler üç hücre hattında güçlü etki gösterirken, 2-halojenli türevler sadece EC109 hattında etkilidir. Bu bulgular, halojen konumu ve elektron çekici özelliklerin tümör seçici aktiviteyi belirlediğini ortaya koymuştur (Zhang ve ark., 2016).



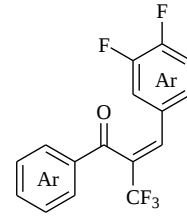
Şekil 2.15. Sentezledikleri Bileşik H72.

Sentezlenen yedi yeni α -triflorometil kalkonlar ve bilinen bileşiğin antiproliferatif aktiviteleri, androjen bağımsız prostat kanseri hücre hatları DU145 ve PC-3 üzerinde değerlendirilmiştir. Aromatik aldehit kısmı F, CF_3 , NO_2 gibi elektron çekici veya NMe_2 gibi elektron verici gruplarla süstitüe edilmiştir. α -konumuna CF_3 grubunun eklenmesi aktiviteyi belirgin artırmış; 4- NO_2 ve 3,4-difloro kalkonlar $IC_{50} < 0,2 \mu$ M ile en güçlü etkiyi göstermiştir. α - CF_3 grubunun hücre büyümesini baskılayan kritik bir yapı olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.16).

Tüm α - CF_3 kalkonlar ayrıca A549, MDA-MB-231, MCF-7, KB ve ilaç dirençli KB-VIN hücre hatlarında da test edilmiştir. Elektron çekici gruplar taşıyan bileşikler (özellikle 4- NO_2 , 4- CF_3 , 3,4-difloro) daha güçlü etki göstermiştir. En güçlü bileşik olan 3,4-difloro içeren kalkon, taxan dirençli hücre hatlarında etkili olmuş ve yalnızca 3 mg/kg dozla fare ksenograft modelinde anlamlı antitümör aktivite sağlamıştır. Bulgular, α - CF_3 grubunun antiproliferatif kalkonlar için kilit yapısal özellik olduğunu ve dirençli kanserlerde terapötik potansiyel taşıdığını göstermektedir (Saito ve ark., 2021).



(E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenil-2-(triflorometil)prop-2-en-1-on



(E)-3-(3,4-diflorofenil)-1-fenil-2-(triflorometil)prop-2-en-1-on

Şekil 2.16. 4-NO₂ ve 3,4-difloro İçeren Kalkonlar

3. MATERYAL VE METOT

3.1.Bileşiklerin Sentez Planı

Genel bilgiler kısmında bahsedildiği üzere, halojenlerin yüksek elektronegatiflikleri, kararlı X-bağı ve çok yönlü hedef protein etkileşimleri kurabilmesi, hedef bağlanma afinitesinin yüksekliği, bileşikte oksidatif stabilite sağlayabilmesi, nükleofilik saldırılara H bağına göre daha direnç göstermesi, seçici reaktivite ve biyolojik aktivitede artış göstermesi, fiziksel özellikte modifikasyonu ve yapısal stabiliteyi sağlayabilmesi, farmakokinetik davranışlarda iyileştirme yapabilmesi ve düşük yan etki potansiyeli, gibi davranışlarından dolayı 2-CF₃, F, Cl ve Br fonksiyonel gruplarını içeren kalkon bileşiklerinin sentezlenmesi planlandı. Bileşikler yüksek verimde ve saflıkta sentezlenmiş, karakterizasyonları yapılmış ve preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır. Ayrıca elde edilen 9 adet kalkon bileşiğinin (11-19) A549 ve Hep3B hücre hatlarında antikanser aktiviteleri incelenmiş, IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Sentezde kullanılan ilgili keton (1), aldehit bileşikleri (2-10), reaktant ve solventler ticari olarak satın alınmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında 1,3-difenil-2-propen-1-on genel yapısındaki kalkonların A halkasında 2-pozisyonundaki triflorometil grubuna karşılık, B halkasında 2, 3 ve 4 pozisyonlarında F, Cl, Br süstitüe türevleri, oda sıcaklığında, bazik ortamda Claisen Schmidt reaksiyonu ile sentezlendi (Şekil 3.1). Elde edilen bu yeni kalkon bileşiklerinin antikanser aktivitelerini değerlendirmek için *in vitro* yöntemle hücre çalışmaları gerçekleştirildi.

3.2. Bileşiklerin Sentezi

Bileşiklerin sentezinde, 2-(triflorometil)asetofenon bileşiği (1) oda sıcaklığında (25 ° C) metanol çözücüsü içinde karıştırıldı. %50 KOH sulu çözeltisi damla damla ilave edilerek bazik reaksiyon ortamı oluşturuldu. İlgili aldehitler (2-10) eklendi. 30 dk aralıklarla numune alınarak %5 etilasetat: hekzan mobil fazında İTK ile takip edildi ve yaklaşık 4 saatin sonunda reaksiyonlar tamamlandı. Reaksiyon sıvısı buzlu beher içerisine alındı ve %10'luk HCl çözeltisi ile Ph=4 'e ayarlanarak reaksiyon sonlandırıldı. Asitlendirme sonrasında herhangi bir çökme gözlenmediği için ekstraksiyona geçildi. 5 ml etilasetat ile 3 kez ekstraksiyon yapıldı. Etil asetatlı fazlar birleştirildi. İçerisinde kalabilecek su molekülleri için bir miktar susuz Na₂SO₄ eklendi. Ardından etilasetat fazı Rotary evaporatörde uçuruldu. Ardından ekstra saflaştırma işlemi için %5 etilasetat: hekzan mobil fazında kolon (silika jel) kuruldu. Kolon sonrası toplanan elüentler tekrar Rotary evaporatörde uçuruldu. Kolon sonrası NMR analizi yapılan bileşiklerde ufak safsızlıkların olduğu tespit edildi. Bunun için maddeler preparatif HPLC ile saflaştırıldı. Saflaştırma sonrasında tüp içerisindeki solventler tekrardan evaporatörde konsantre edildi. Kondenzasyon reaksiyonu sonucu ham ürünler yüksek saflıkta ve iyi verimde kazanıldı. Tekrardan NMR analizleri yapıldı.

Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi Analizi

Bileşiklere ait ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, DMSO-d₆ (Dötorodimetilsülfoksit, Merck) içerisinde çözülerek 400 MHz Bruker spektrofotometresinde (Bruker Biospin AG, Fallanden, İsviçre) alınmıştır.

Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektroskopisi (HRMS) Analizi

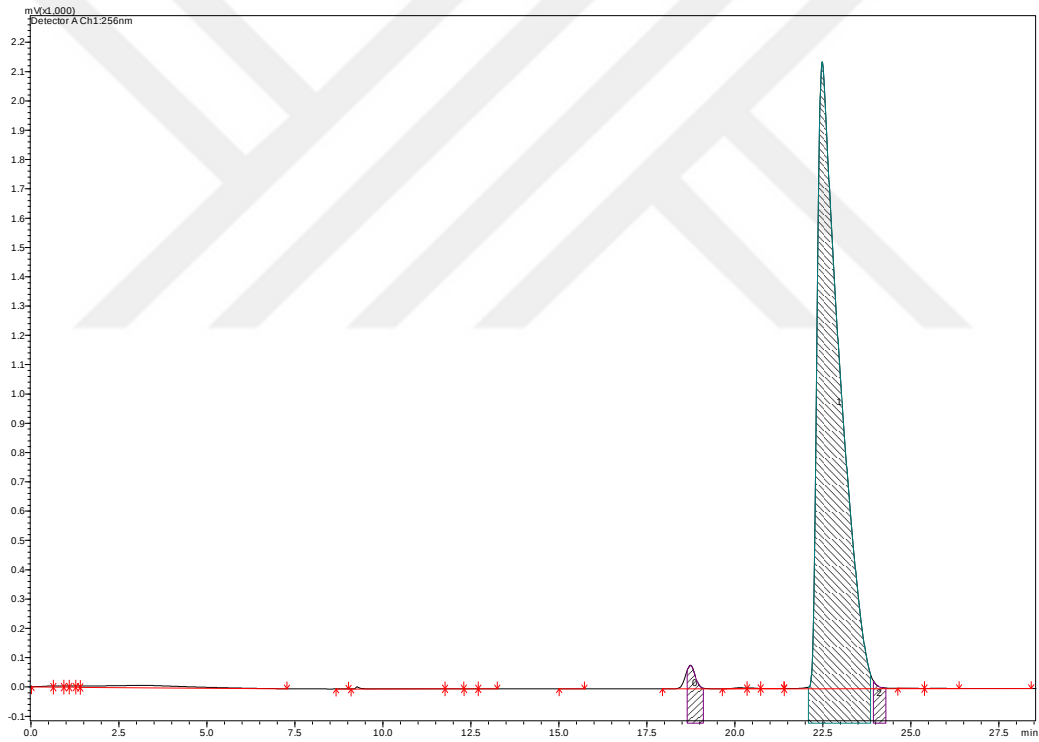
Bileşiklerin kütle spektrumları, elektron spre y iyonizasyon (ESI) kaynağıyla donatılmış Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS spektrometresinde alınmıştır.

3.3. Bileşiklerin Saflaştırılması

Kolon kromatografisi sonucu ufak safsızlıkların görülmesi üzerine bileşikler; Shimadzu marka, Reservoir Tray model numaralı, SPD-20A UV-VİS dedektörlü Reprospher 100 Si, 5 µm, 250 × 20 mm kolonu içeren preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır.

3.3.1. Bileşik 11'in Saflaştırılması

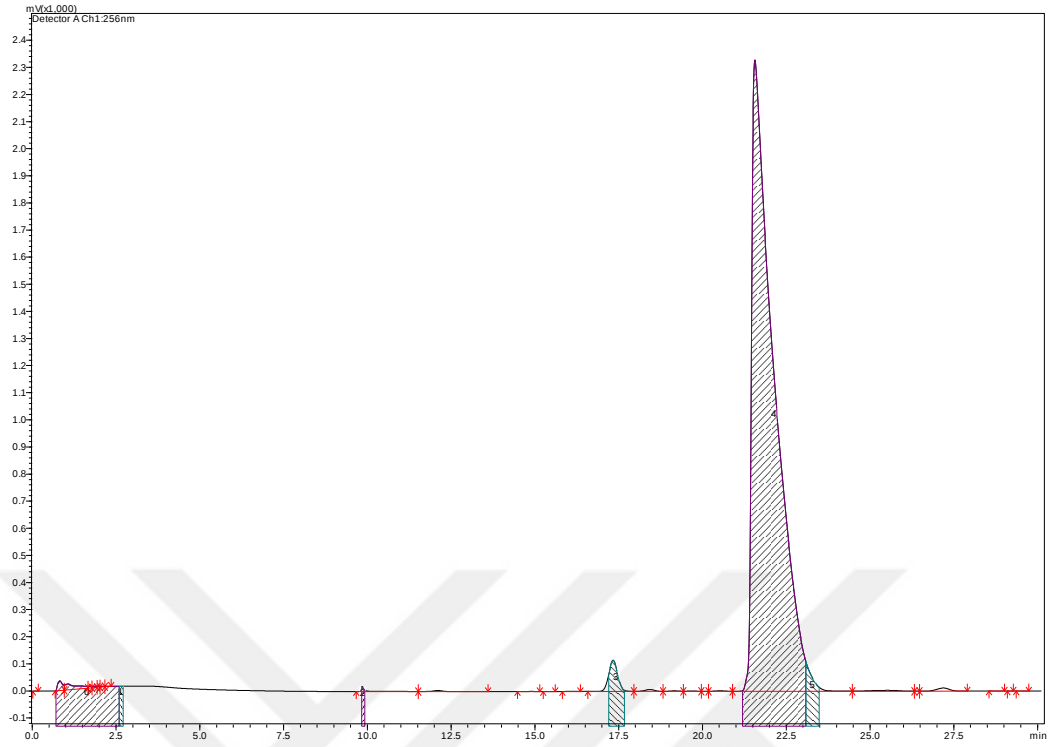
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %7 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %93 hekzan oranında 22.5 dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.3. Bileşik 11'in Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.2. Bileşik 12'nin Saflaştırılması

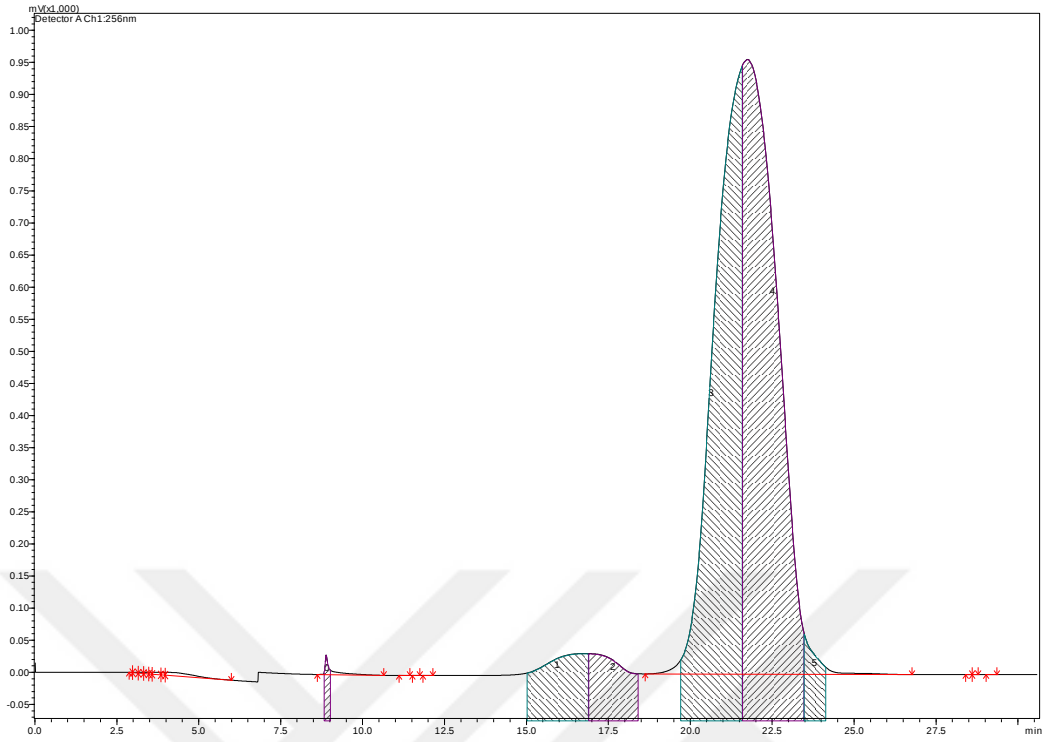
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %9 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %91 hekzan oranında 21.5 dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.4. Bileşik 12'nin Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.3. Bileşik 13'ün Saflaştırılması

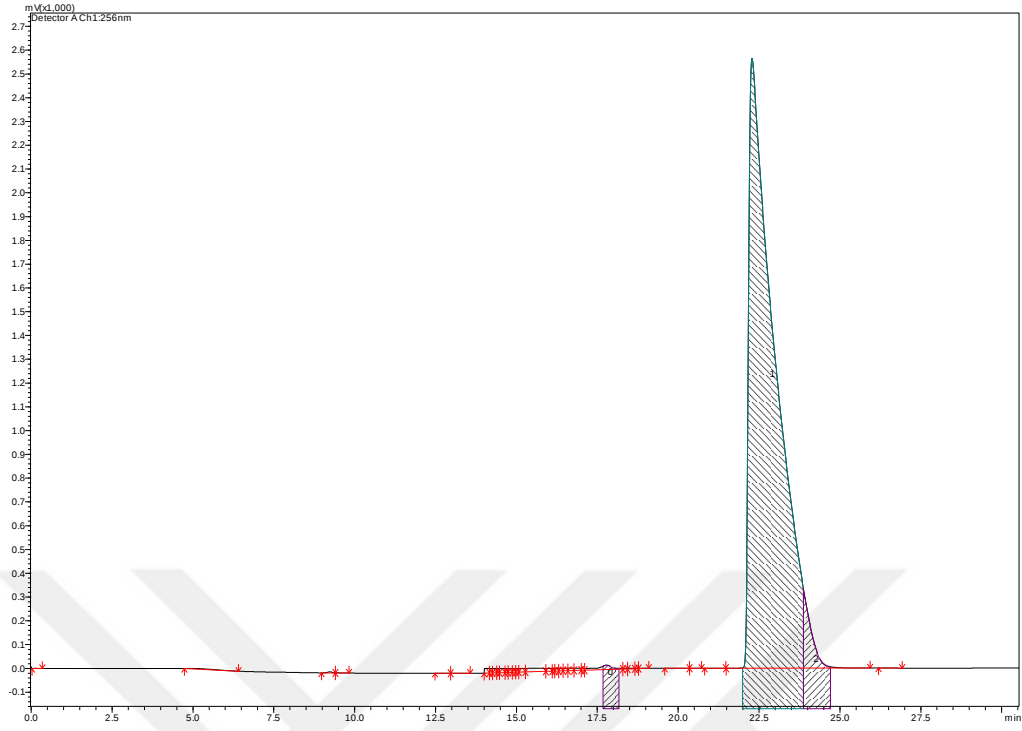
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %8 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %92 hekzan oranında 21.5 dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.5. Bileşik 13'ün Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.4. Bileşik 14'ün Saflaştırılması

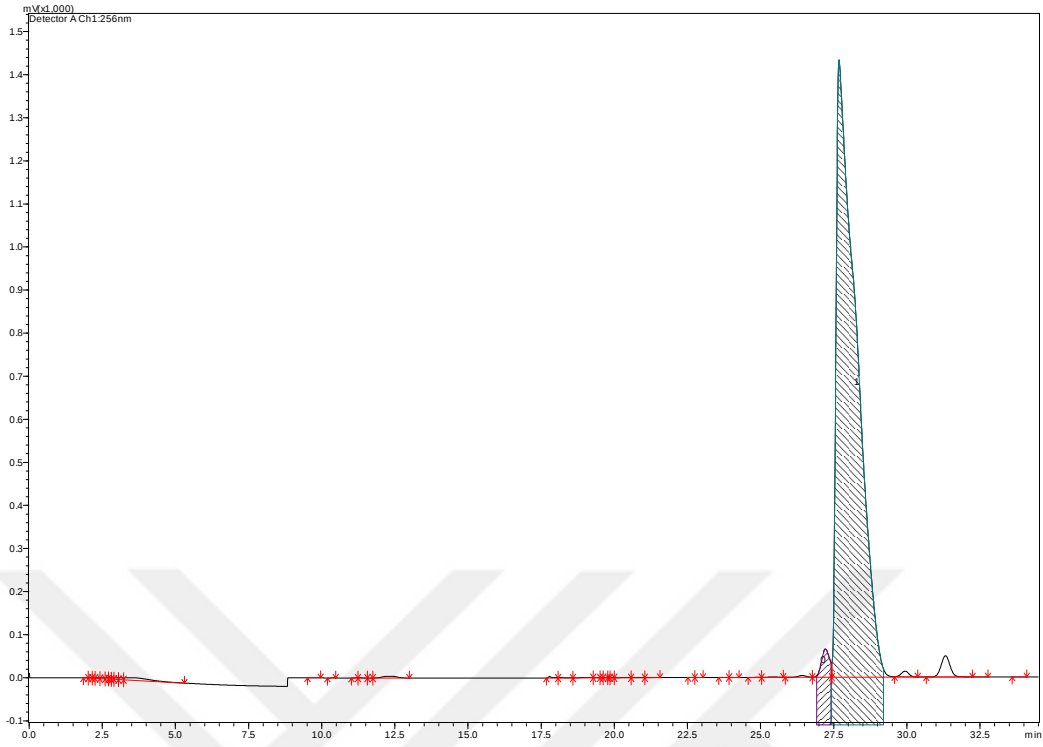
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %9.4 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %90.6 hekzan oranında 22. dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.6. Bileşik 14'ün Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.5. Bileşik 15'in Saflaştırılması

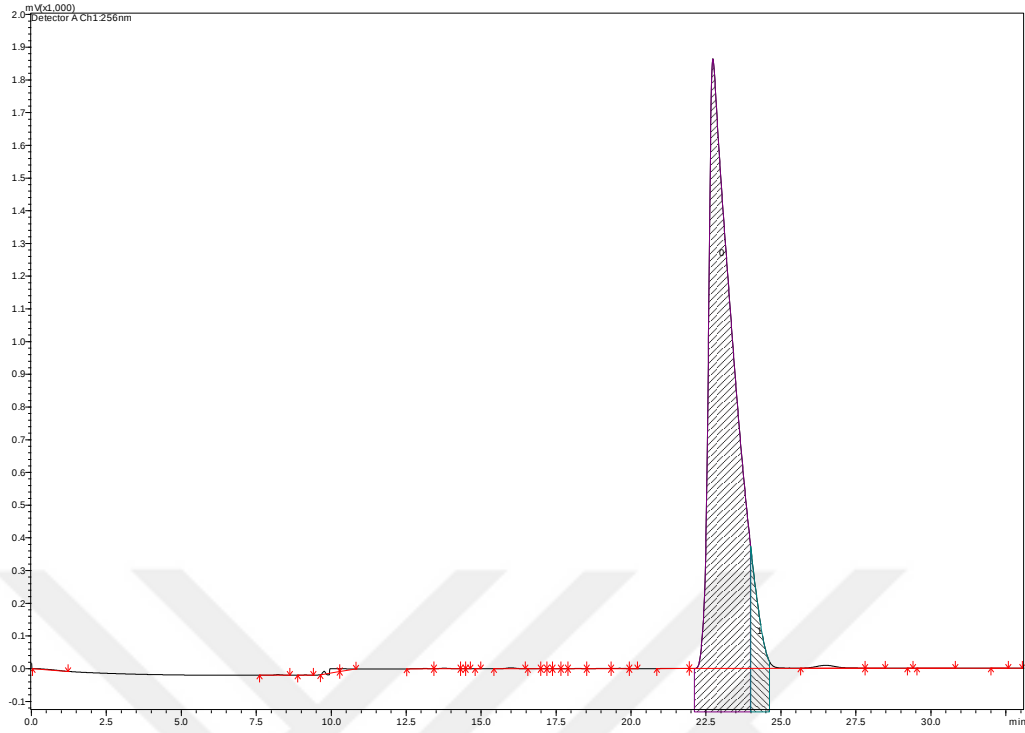
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %9 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %91 hekzan oranında 27.5 dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.7. Bileşik 15'in Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.6. Bileşik 16'nın Saflaştırılması

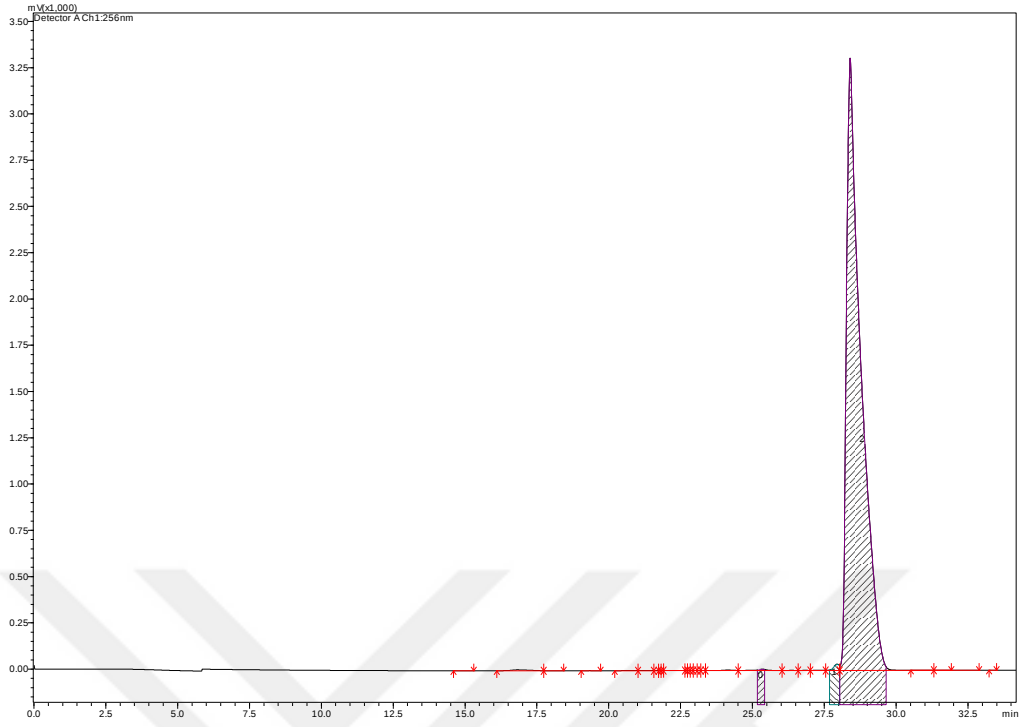
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %8 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %92 hekzan oranında 23. dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.8. Bileşik 16'nın Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.7. Bileşik 17'nin Saflaştırılması

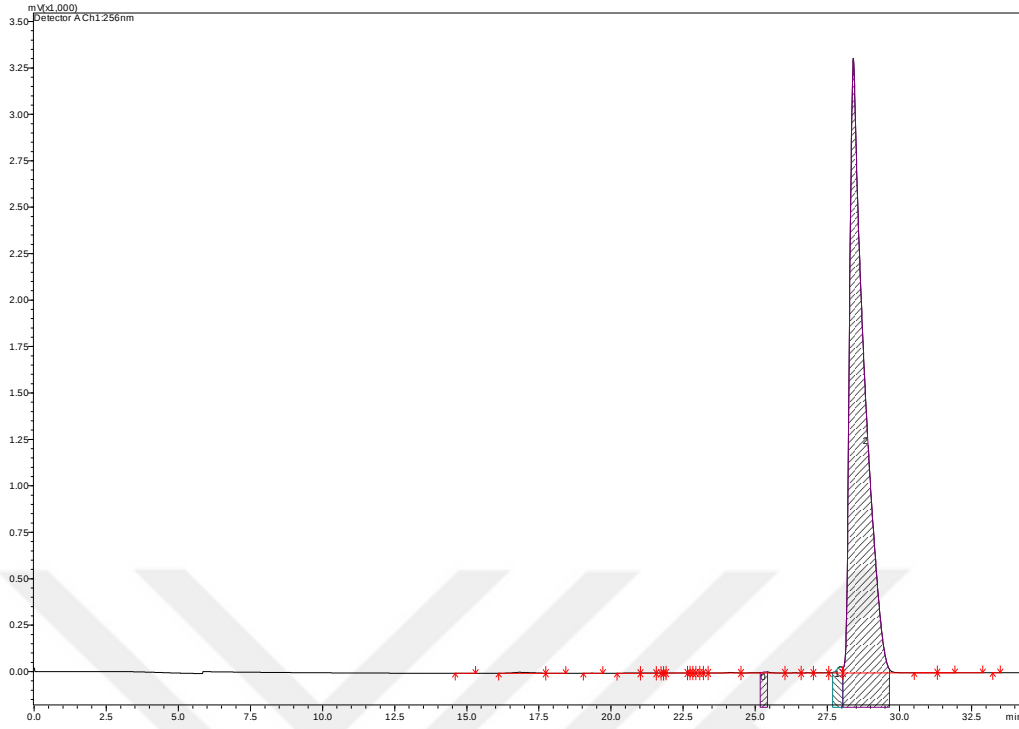
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %10 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %90 hekzan oranında 28. dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.9. Bileşik 17'nin Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.8. Bileşik 18'in Saflaştırılması

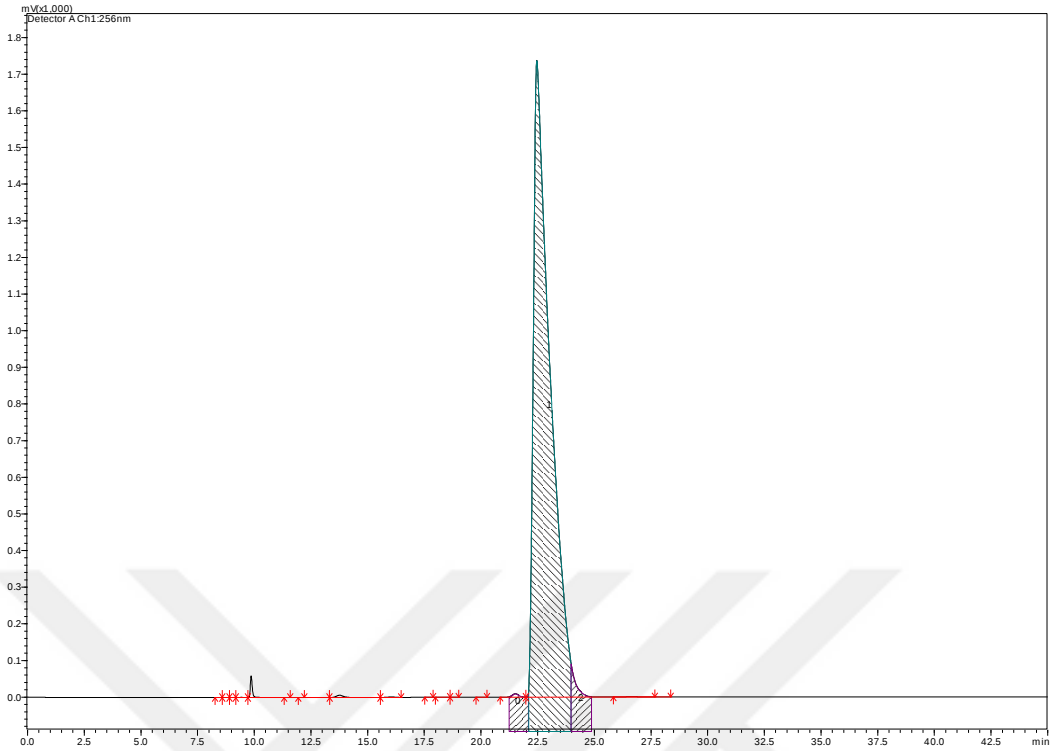
Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %9.6 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Hedef bileşik, %90.4 hekzan oranında 28. dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.10. Bileşik 18'in Preparatif HPLC Kromatogramı

3.3.9. Bileşik 19'un Saflaştırılması

Ham ürün, preparatif HPLC ile 8 mL/dk akış hızı ve oda sıcaklığında (24 °C) yürütülen normal faz gradyan elüsyon metodu ile saflaştırıldı. Elüsyon, 254 nm dalga boyunda takip edildi, %100 hekzan ile başlatıldı ve %8 etilasetat içeren hekzan karışımına gradyen uygulanmıştır. Bileşik, %92 hekzan oranında 22. dakikada elde edilmiştir.



Şekil 3.11. Bileşik 19'un Preparatif HPLC Kromatogramı

3.4. Antikanser Aktivite Çalışması

Sentezlenen 9 bileşik için antikanser aktiviteleri, Hep3B ve A549 hücre hatlarında çalışıldı. Bu çalışma boyunca kullanılan hücre hatları, besiyerleri, kimyasallar ve sarf malzemeler ticari olarak satın alınmıştır. Hücre hatlarının çoğaltılabilmesi için kullanılmış olan besiyerleri Hep3B ve A549 için, Minimum Essential Medium (MEM, 500 ml) içerisine %10 (50 ml) fetal sıgır serumu (FBS), %1 (5 ml) penisilin streptomisin eklenerek hazırlanmış ve +4°C'de saklanmıştır.

Hücre ekim işlemi MEM (%10 fetal bovine serum, FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren) içerisinde 75 cm² 'lik kültür plaklarına yapılmıştır. Sıcaklığı 37°C'de olan ve %5 CO₂ içeren inkübatörde çoğaltılmıştır. İnkübatör içerisinde kültür ortamında bulunan hücrelerin 2-3 gün aralıklarla besiyerleri değiştirilmiş, pasajlanarak hücreler çoğaltılmıştır.

3.4.1. Uygun Hücre sayılarının Belirlenmesi

1. 75 cm² 'lik flaskta tutunmuş Hep3B ve A549 hücreleri üzerinden besiyerleri çekilerek uzaklaştırılmıştır.
2. Tutunan hücreler 3 ml D-PBS çözeltisi ile ikişer kez yıkanmıştır.
3. Flaska 2,5-3 ml tripsin eklenmiş, hücreler 5 dk inkübatörde bırakılmıştır.
4. Hücrelerin ışık mikroskobu altında flask tabanından ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edilmiştir.
5. Tripsinin etkisini bloke etmek için 1:1 oranında MEM flask üzerine eklenmiştir.
6. Tripsin ile kaldırılan hücreler steril falkon tüpe aktarılıp, besiyeri 12 ml'ye tamamlanmıştır.
7. Hücre süspansiyonu 5 dakika boyunca 1200 devir/dak hızda santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra tüpteki süpernatant uzaklaştırılmıştır. Hücre pelleti 7 ml besiyeriyle süspande edilmiştir.
8. Süspande edilmiş hücre çözeltisinden 100 µl alınarak bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Üzerine 100 µl %0,4'lük tripan mavisi çözeltisi eklenerek hücreler süspande hale getirilmiştir.
10. Işık mikroskobu altında hücre süspansiyonu Neubauer hücre sayım lamı üzerinde incelenmiştir. Lamın alt ve üst kısımlarında bulunan dört adet karenin kenar çizgileri üzerinde bulunan hücreler hariç, karelerde yer alan hücreler sağdan sola ilerleyerek sayılmıştır. Sekiz ayrı kareden elde edilen hücre sayılarının ortalamaları alınmış ve 1 ml'deki canlı hücre sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

Toplam hücre/ml = Sayılan toplam hücre sayısı x (dilüsyon faktörü/*8) x 10.000

hücre/ml

*8: hücre sayım lamında sayılan kareleri ifade eder.

11. Canlı hücre konsantrasyonları hesaplandıktan sonra hücre süspansiyonu, A549 için her bir kuyucukta 3.000 hücre/100 µl; Hep3B için 3.000 hücre/100 µl; şekilde seyreltilmiştir. 96 kuyucuklu kültür plağına hücre ekimi yapılmıştır.

12. Hücrelerin kuyucuk yüzeyine tutunması ve çoğalması için 24 saat inkübasyon sağlanmıştır.

3.4.2. Hep3B ve A549 hücrelerinde 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)- 2,5-difeniltetrazolyum Bromür Yöntemi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi

3.4.2.1. Yöntemin Esası

3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemi, hücre canlılığını ve dolayısıyla bir maddenin sitotoksitesini belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan kolorimetrik bir testtir. Bu yöntemin esasına göre, canlı hücrelerde bulunan mitokondriyal dehidrogenaz enzimleri, sarı renkli suda çözünür MTT tuzunu, mor renkli ve suda çözünmeyen formazan kristallerine indirger. Oluşan bu mor renkli formazan kristalleri, yalnızca metabolik olarak aktif (canlı) hücreler tarafından üretildiğinden, maddeye maruz kalan hücrelerin canlılık düzeyini yansıtır. Deney sonunda formazan kristalleri uygun bir çözücü (genellikle DMSO) ile çözülerek spektrofotometrede 570 nm’de ölçülür. Absorbans değerleri, hücre canlılığı ile doğru orantılı olup, test edilen maddenin sitotoksik etkisini nicel olarak belirlemeye olanak tanır.

3.4.2.2. Yöntemin Uygulanışı

1. Besiyeri steril şartlarda uzaklaştırılıp, hücreler ilgili besiyeri (%1 penisilin streptomisin ve %10 FBS içeren) içinde 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 250 μ M, 500 μ M ve 1000 μ M konsantrasyonlarda test maddelerine 24 saat maruziyet gerçekleştirilmiştir.
2. Herhangi bir uygulama yapılmamış hücre hatları kontrol grubu olarak (Hep3B ve A549 hücre hattı) kullanılmıştır.
3. Pozitif kontrol olarak doksorubisin seçilmiş ve 1,25 μ M, 2,5 μ M, 5 μ M ve 10 μ M konsantrasyonlarda doksorubisin ile hücreler 24 saat inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon süresinin sonunda uygulama çözeltileri uzaklaştırılarak her bir kuyucuğa hazırlanmış olan MTT çözeltisinden (0,5 mg/ml) 30 μ l eklenmiştir. 3 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. MTT çözeltisinin ışık ile bozulmasını önlemek için karanlık ortamda çalışılmıştır.

5. İnkübasyonun sonunda MTT çözeltisi kuyucuklardan uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin oluşturduğu formazan kristallerini çözmek için her bir kuyucuğa 120 µl DMSO eklenmiştir. Çözeltiler çalkalayıcıda 15-20 dk süre ile çalkalanmıştır.
6. Kuyucuklardaki çözelti absorbans değerleri 570 nm’de ölçülmüştür.
7. Kontrol grubu olarak kullanılan hücrelerin absorbans değerleri %100 olarak kabul edilmiştir. IC₅₀ değerleri buna göre hesaplanmıştır.
8. Çalışma üç tekrarlı yapılmış ve sonuçlar ortalama alınarak hesaplanmıştır.

3.4.2.3. Hücre Canlılığının Hesaplanması

Kontrol hücrelerinin canlılığı %100 kabul edilmiş, diğer hücrelerin canlılığı kontrole kıyasla % olarak hesap edilerek grafikler oluşturulmuştur. Graphpad ve Microsoft excel uygulaması kullanılmıştır.

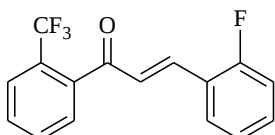
4. BULGULAR

4.1. Deneysel Bulgular

Bu Yüksek Lisans Tezi kapsamında Farmasötik Kimya ve ilaç keşfi için önemli yeri olan kalkon türevi bileşikler sentezlenmiş ve yapı aydınlatması amacıyla spektral teknikler kullanılmıştır. Sentezlenen kalkon türevlerinin ^1H NMR, ^{13}C NMR ve HRMS spektrumları, preparatif HPLC kromatogramları ve sitotoksikite testleri sonucunda elde edilen bulgular bu bölümde sunulmuştur.

4.1.1. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2''-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (11) Sentezi ve ^1H NMR, ^{13}C NMR ve HRMS Spektrumları

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 93:7, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 22.5) ile saflaştırıldı. Bileşik **11**, (139.8 mg) % 81 verimle açık kahverengi renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

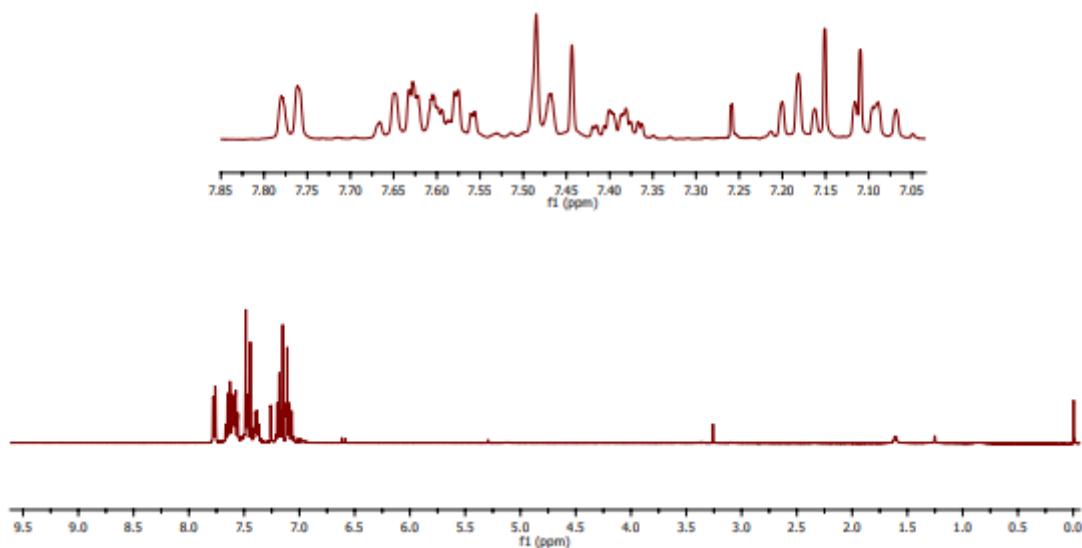
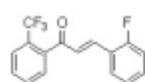


Şekil 4.1. Bileşik **11**'in Kimyasal Yapısı

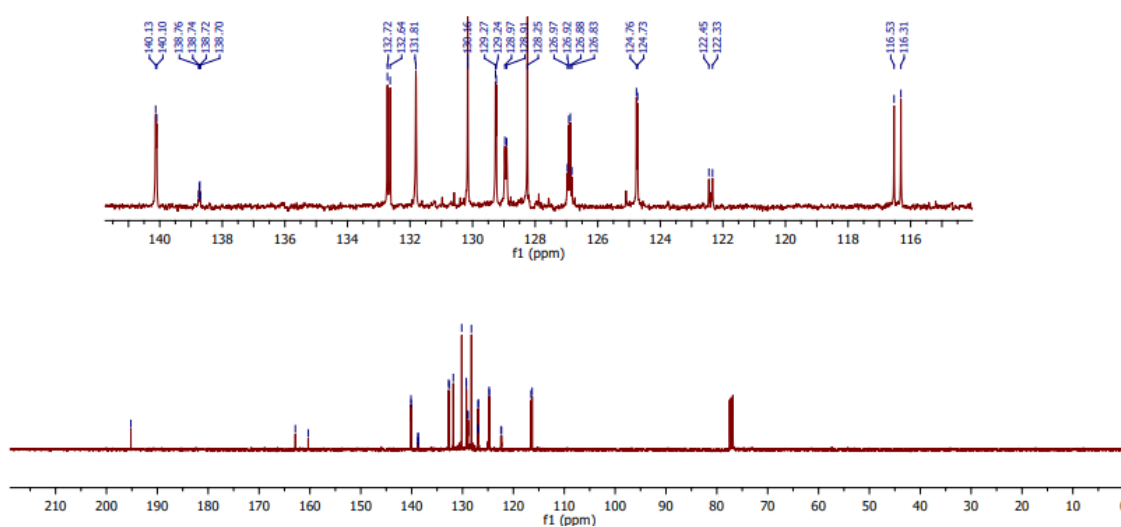
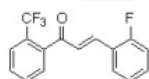
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.77 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.68 – 7.54 (m, 3H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.43 – 7.35 (m, 1H), 7.22 – 7.04 (m, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 195.20 (C=O), 161.60 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 254.8$ Hz), 140.11 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 3.1$ Hz), 138.73 (q, $J_{\text{C},\text{F}} = 2.1$ Hz), 132.68 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 8.8$ Hz), 131.81, 130.16, 129.26 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 2.5$ Hz), 128.94 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 6.0$ Hz), 128.25, 126.90 (q, $J_{\text{C},\text{F}} = 4.8$ Hz), 126.49 (q, $J_{\text{C},\text{F}} = 275.4$ Hz), 124.75 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 3.6$ Hz), 122.39 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 11.6$ Hz), 116.42 (d, $J_{\text{C},\text{F}} = 21.9$ Hz).

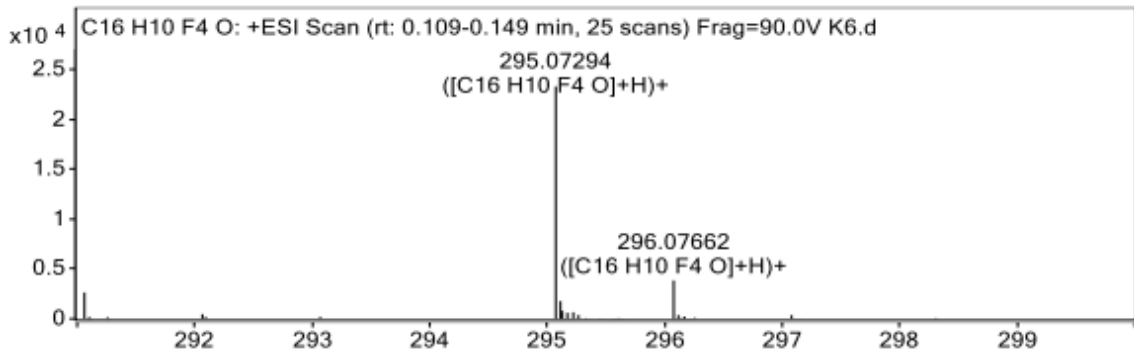
HRMS (ESI-MS) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_4\text{O}$ için hesaplanan: 294.06678; bulunan: 294.06572.



Şekil 4.2. Bileşik 11'in ^1H NMR Spektrumu



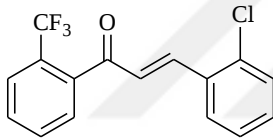
Şekil 4.3. Bileşik 11'in ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 4.4. Bileşik 11'in HRMS Spektrumu

4.1.2. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2''-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (12) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 91:9, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 21.5) ile saflaştırıldı. Bileşik 12, (110 mg) % 44.41% verimle sarı renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

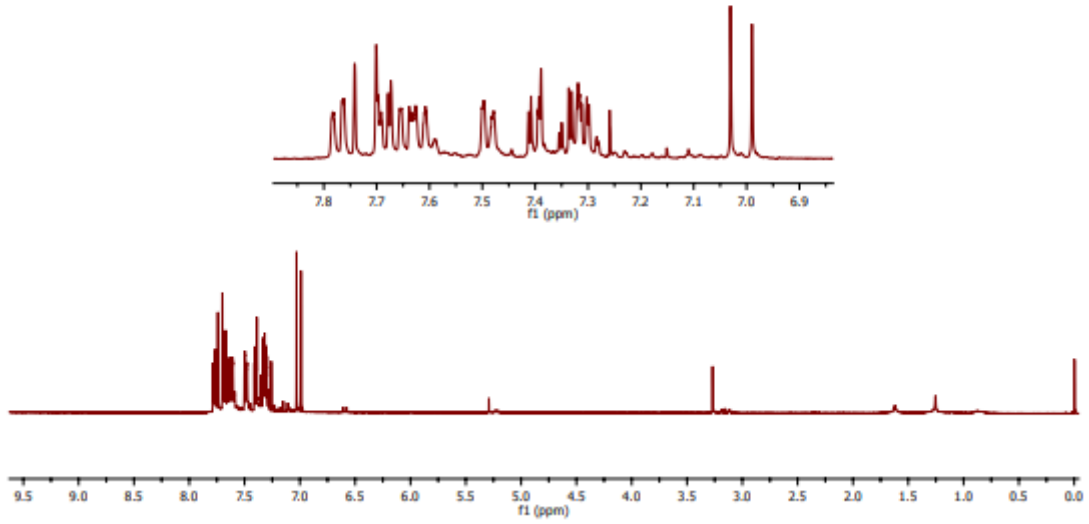
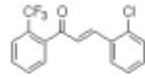


Şekil 4.5. Bileşik 12'nin Kimyasal Yapısı

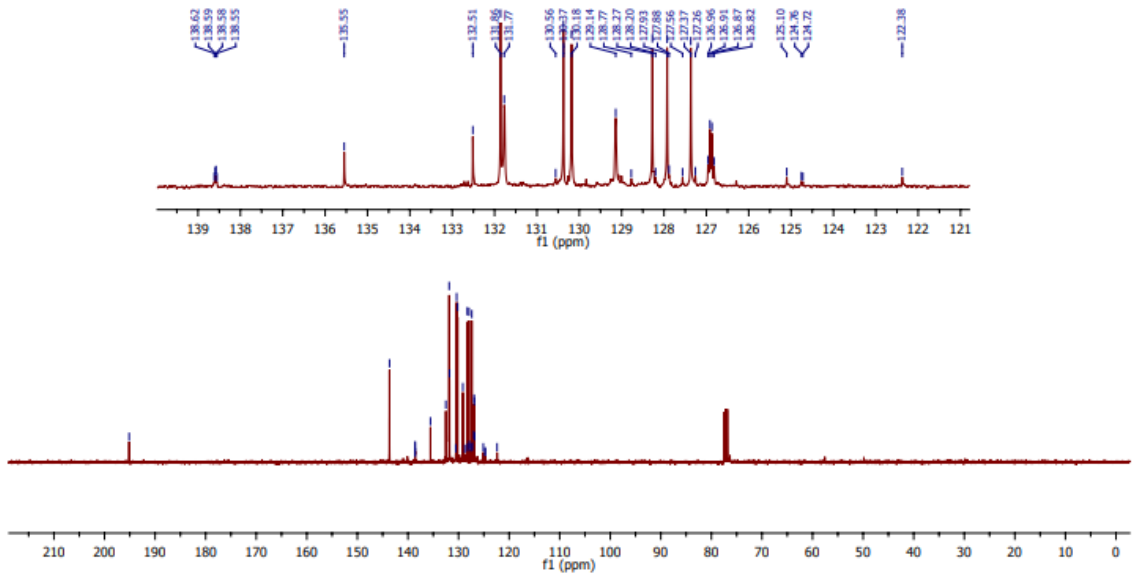
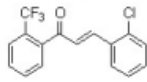
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H, H_β), 7.70 – 7.58 (m, 3H), 7.51 – 7.47 (m, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 2H), 7.01 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 195.13 (C=O), 138.59 (q, *J*_{C,F} = 2.1 Hz), 135.55, 133.51, 131.86, 131.77, 130.37, 130.18, 129.14, 128.27, 127.93, 127.70 (q, *J*_{C,F} = 31.8 Hz), 127.37, 126.89 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz), 126.3 (q, *J*_{C,F} = 274.3 Hz), 124.74 (q, *J*_{C,F} = 3.6 Hz).

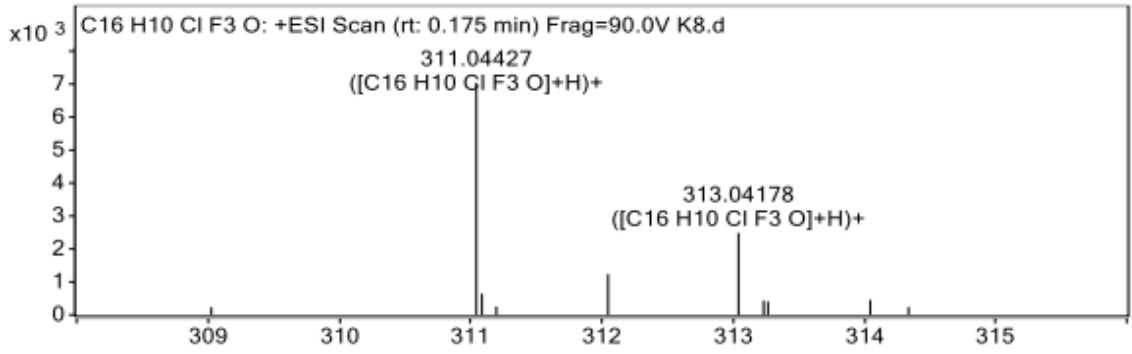
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀ClF₃O için hesaplanan: 310.03723; bulunan: 310.03702.



Şekil 4.6. Bileşik 12'nin ^1H NMR Spektrumu



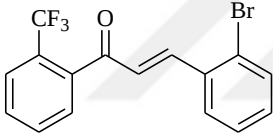
Şekil 4.7. Bileşik 12'nin ^{13}C NMR Spektrumu



Şekil 4.8. Bileşik 12'nin HRMS Spektrumu

4.1.3. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(2''-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (13) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 92:8, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 21.5) ile saflaştırıldı. Bileşik 13, (140 mg) % 49.48 verimle sarı renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

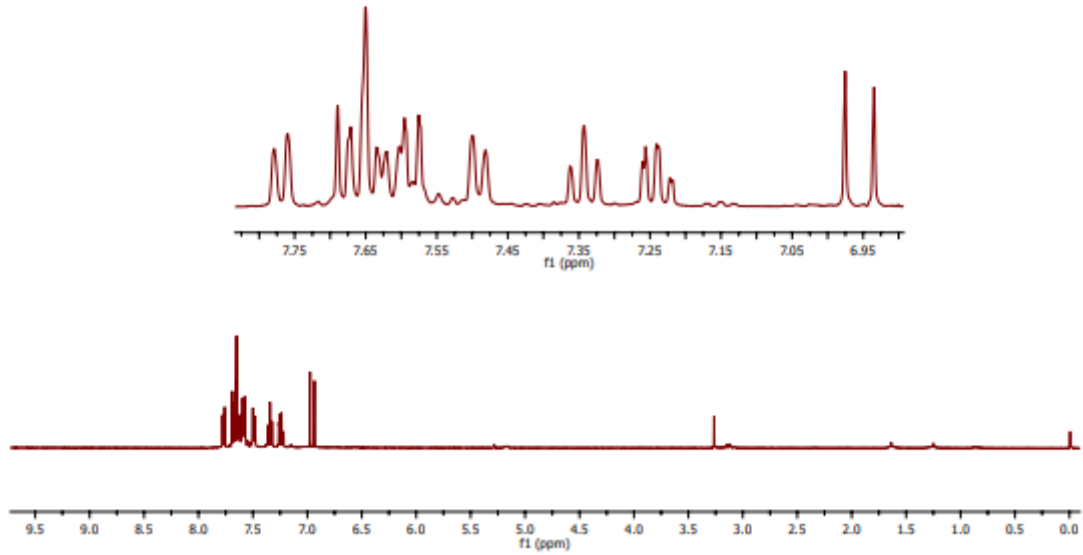
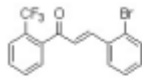


Şekil 4.9. Bileşik 13'ün Kimyasal Yapısı

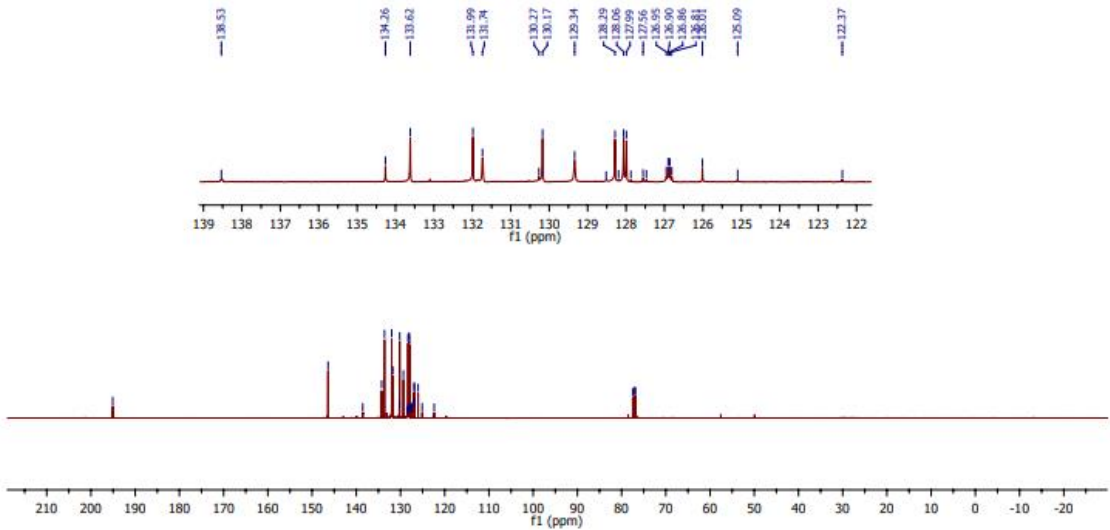
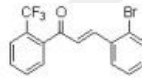
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.56 (m, 4H), 7.67 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.34 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 1H), 6.95 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 195.08 (C=O), 146.39, 138.52 (q, *J*_{C,F} = 2.0 Hz), 134.26, 133.62, 131.99, 131.74, 130.27, 129.34, 128.29, 128.06, 127.99, 127.76 (q, *J*_{C,F} = 32.4 Hz), 126.88 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz), 126.32 (q, *J*_{C,F} = 264.7 Hz), 126.1.

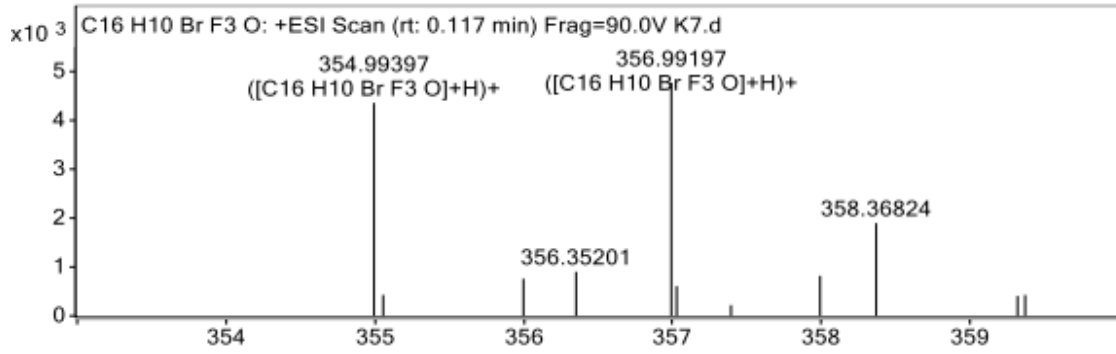
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀BrF₃O için hesaplanan: 353.98671; bulunan: 353.98645.



Şekil 4.10. Bileşik 13'ün ¹H NMR Spektrumu



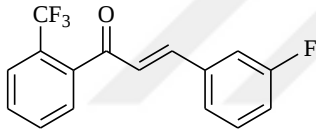
Şekil 4.11. Bileşik 13'ün ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.12. Bileşik 13'ün HRMS Spektrumu

4.1.4. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3''-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (14) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 90.6:9.4, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 22) ile saflaştırıldı. Bileşik 14, (106.4 mg) % 64.10 verimle açık sarı renkli, viskoz sıvı madde olarak elde edildi.

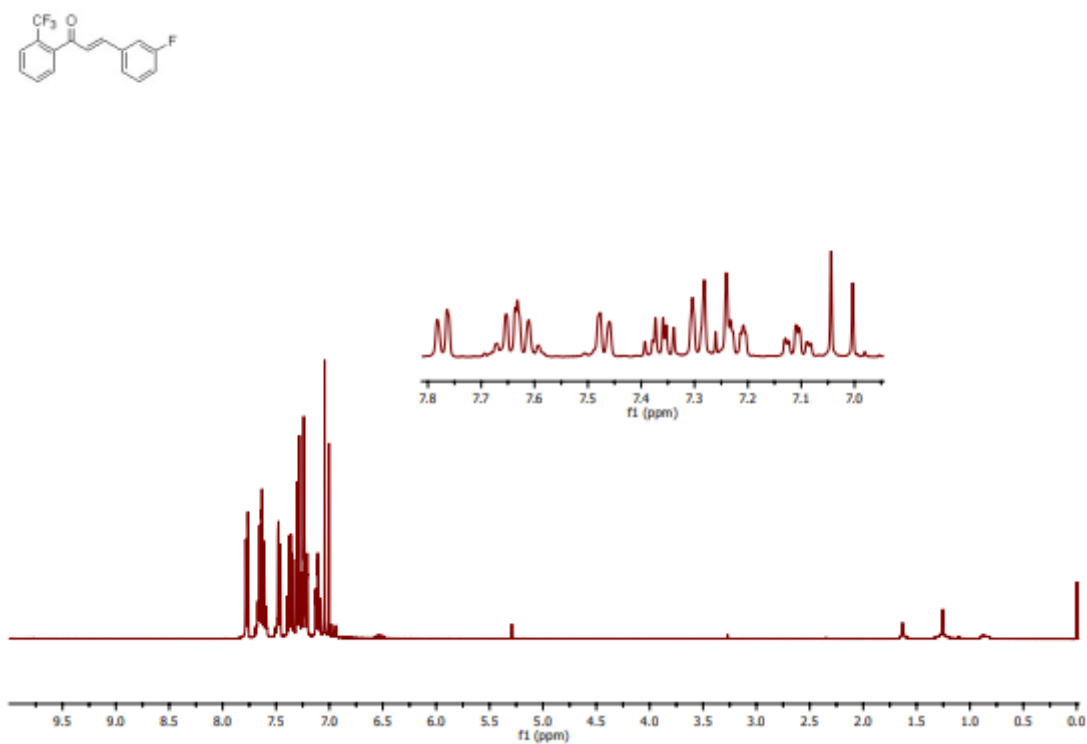


Şekil 4.13. Bileşik 14'ün Kimyasal Yapısı

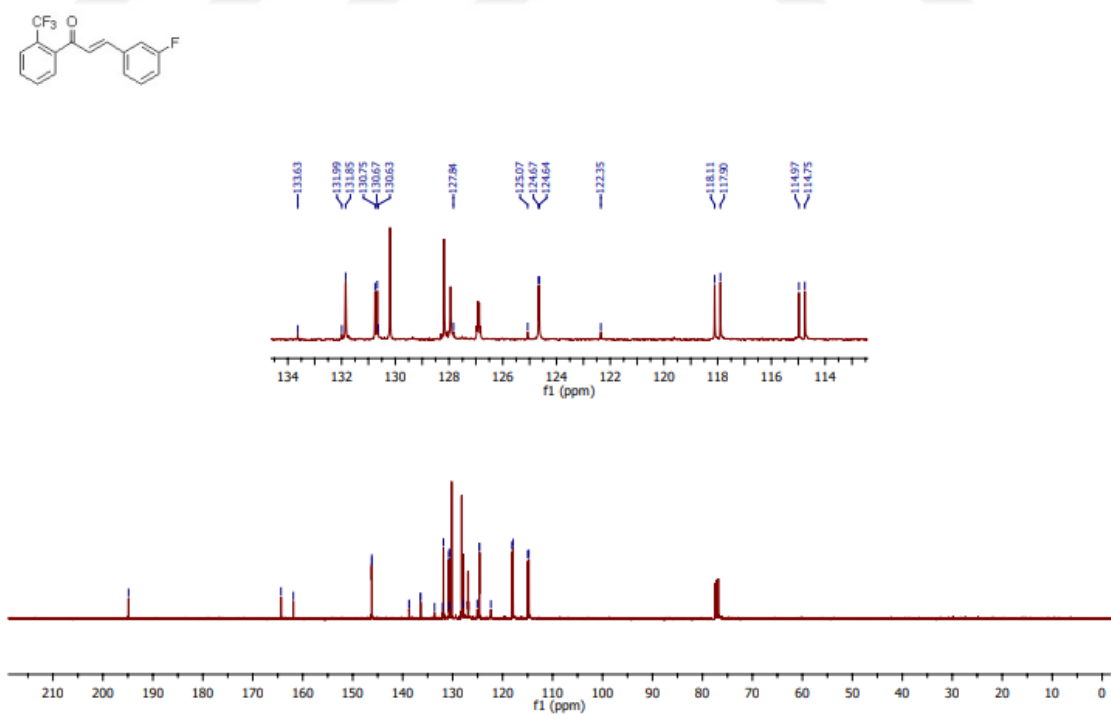
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.68 – 7.58 (m, 2H), 7.47 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.39-7.34 (m, 1H), 7.32 – 7.19 (m, 2H), 7.26 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H, H_β), 7.13-7.08 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 194.86, 163.12 (d, *J*_{C,F} = 247.2 Hz), 146.17 (d, *J*_{C,F} = 2.6 Hz), 138.70 (d, *J*_{C,F} = 1.9 Hz), 136.45 (d, *J*_{C,F} = 7.6 Hz), 131.85, 130.71 (d, *J*_{C,F} = 8.2 Hz), 130.19, 128.30, 128.07, 127.84, 126.90 (q, *J*_{C,F} = 4.8 Hz), 126.46 (q, *J*_{C,F} = 277.6 Hz), 124.66 (d, *J*_{C,F} = 3.0 Hz), 118.00 (d, *J*_{C,F} = 21.5 Hz), 114.86 (d, *J*_{C,F} = 22.2 Hz).

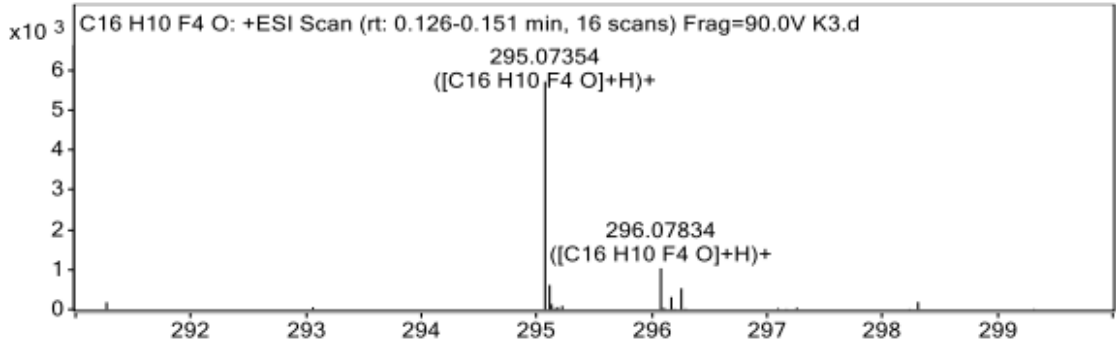
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀F₄O için hesaplanan: 294.06678; bulunan: 294.06655.



Şekil 4.14. Bileşik 14'ün ¹H NMR Spektrumu



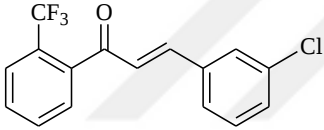
Şekil 4.15. Bileşik 14'ün ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.16. Bileşik 14'ün HRMS Spektrumu

4.1.5. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3''-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (15) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 91:9, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 27.5) ile saflaştırıldı. Bileşik 15, (61.4 mg) % 33,70 verimle parlak sarı renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

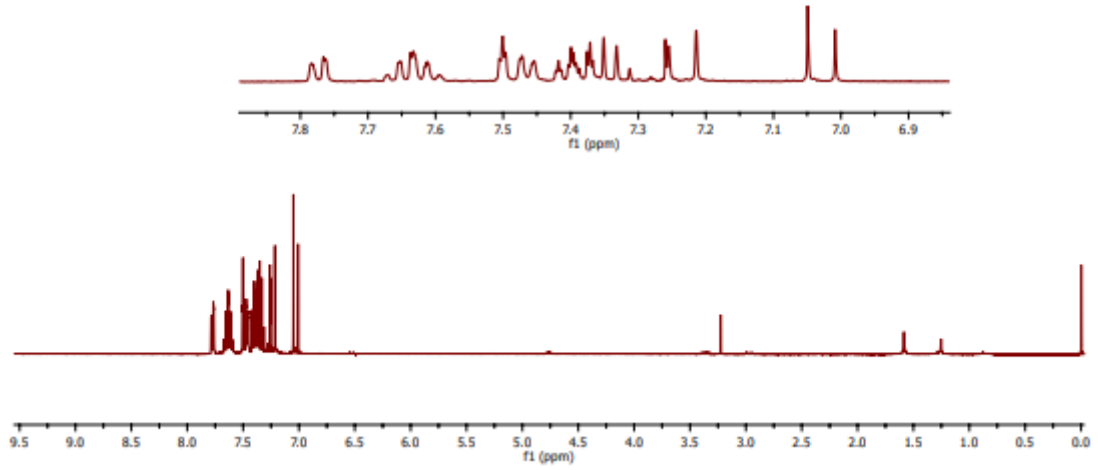
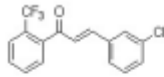


Şekil 4.17. Bileşik 15'in Kimyasal Yapısı

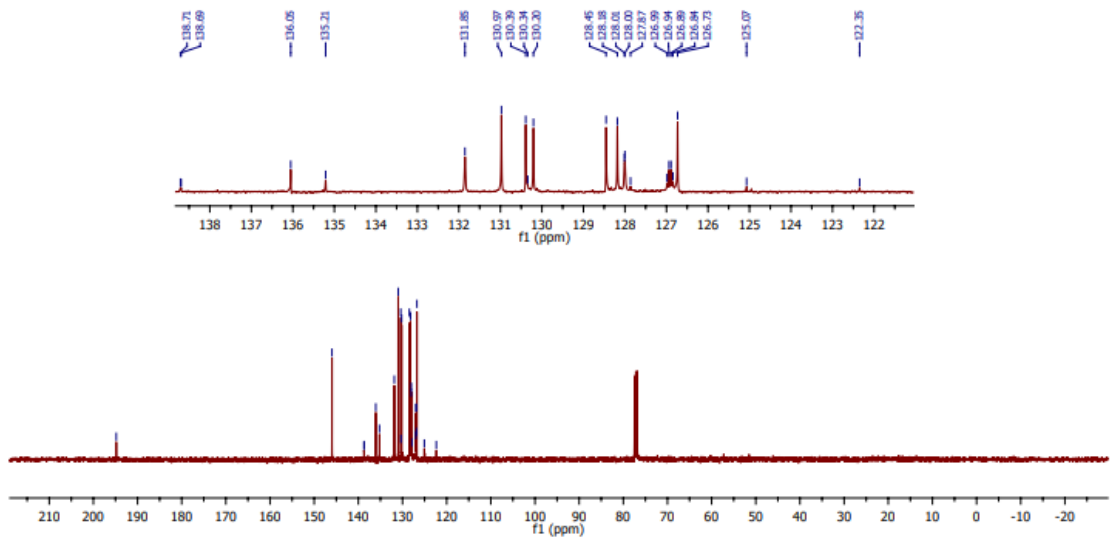
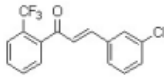
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.78-7.76 (m, 1H), 7.68 – 7.58 (m, 2H), 7.51-7.45 (m, 2H), 7.42 – 7.30 (m, 2H), 7.34 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H) 7.23 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_β), 7.03 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 194.82, 145.97, 138.70 (q, *J*_{C,F} = 1.5 Hz), 136.05, 135.21, 131.85, 130.97, 130.39, 130.20, 128.45, 128.18, 128.01, 128.00, 126.73, 126.91 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz), 126.40 (q, *J*_{C,F} = 268.0 Hz).

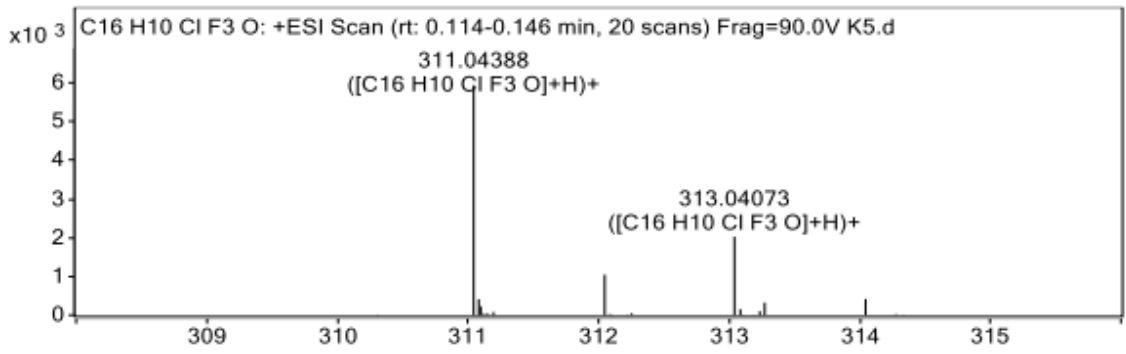
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀ClF₃O için hesaplanan: 310.03723; bulunan: 310.03646.



Şekil 4.18. Bileşik 15'in ¹H NMR Spektrumu



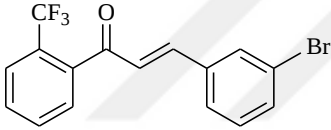
Şekil 4.19. Bileşik 15'in ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.20. Bileşik 15'in HRMS Spektrumu

4.1.6. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(3''-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (16) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 91:9, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 23) ile saflaştırıldı. Bileşik 16, (175.2 mg) % 61.94 verimle sarı renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

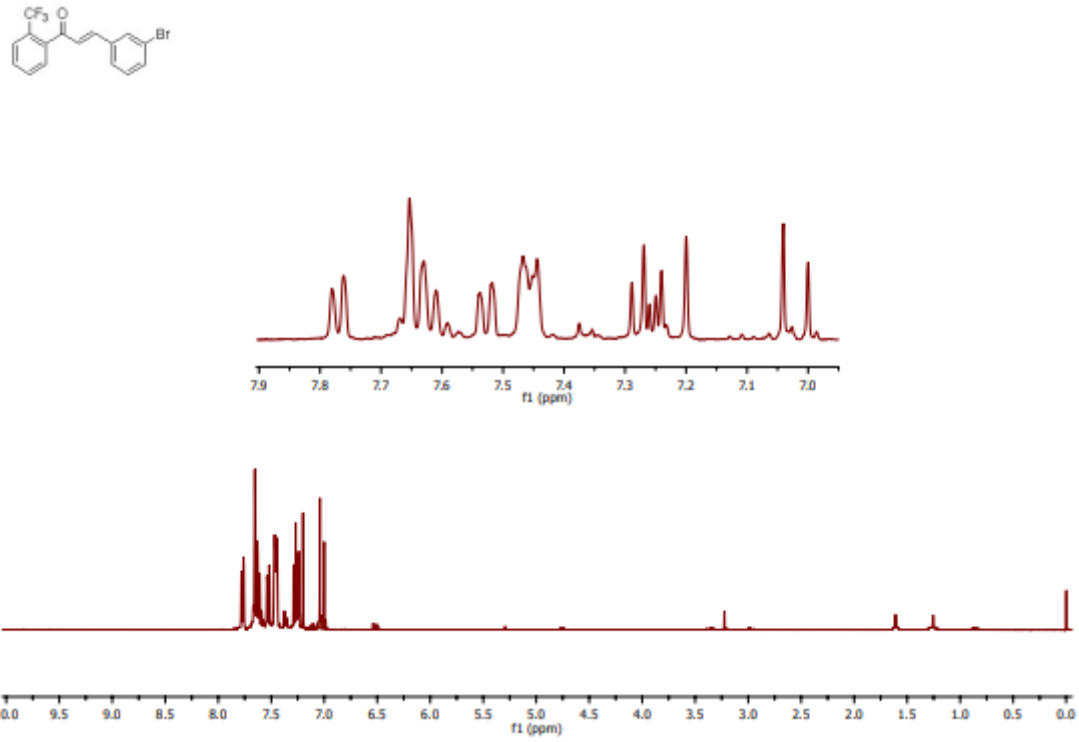


Şekil 4.21. Bileşik 16'nın Kimyasal Yapısı

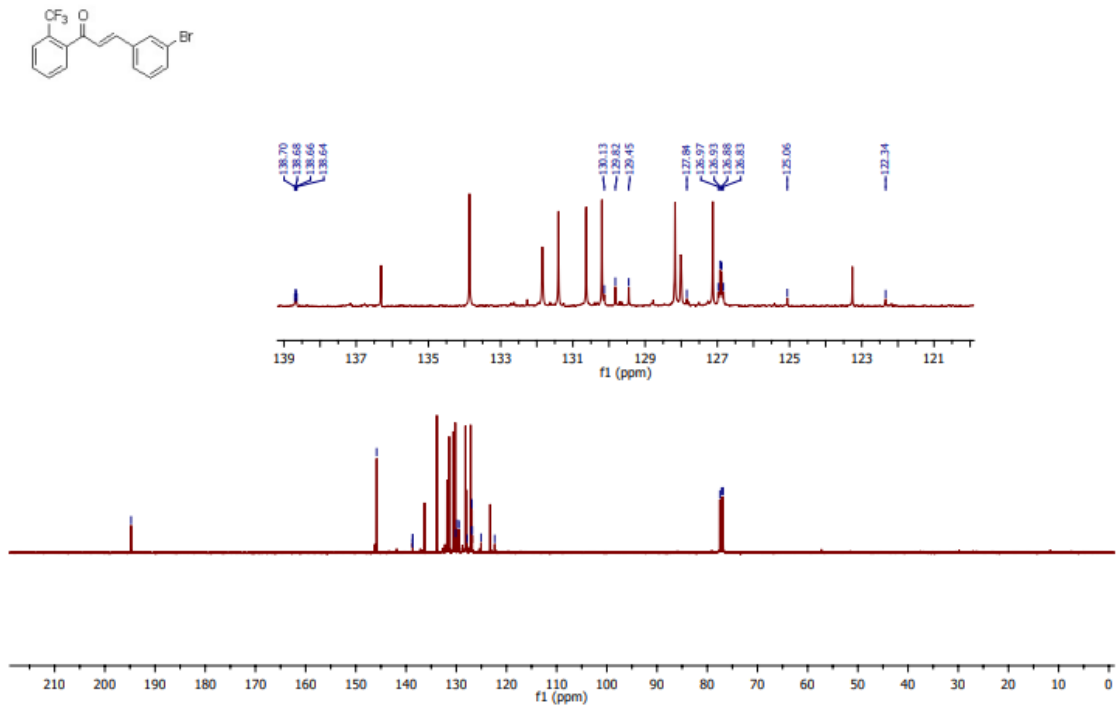
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.56 (m, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.47-7.44 (m, 2H), 7.27 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_β), 7.02 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 194.76 (C=O), 145.85, 138.6 (q, *J*_{C,F} = 2.0 Hz), 136.31, 133.86, 131.85, 131.40, 130.63, 130.20, 129.69, 129.45, 128.17, 128.01, 126.90 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz), 126.3 (q, *J*_{C,F} = 261.1 Hz), 123.26.

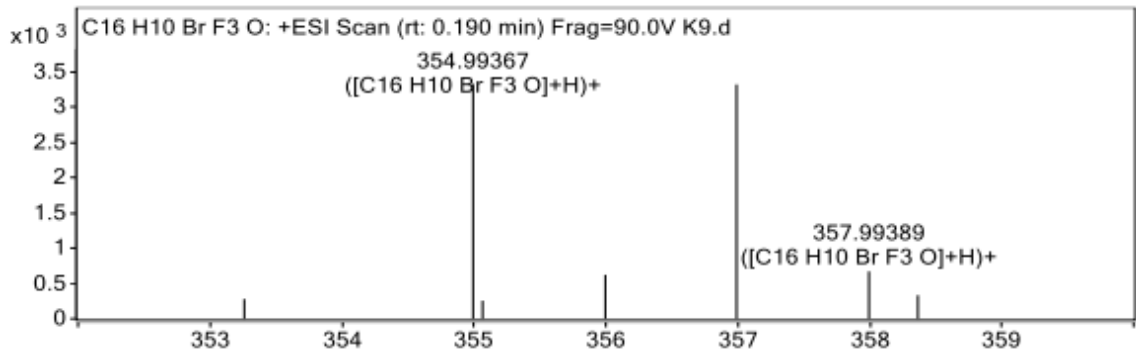
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀BrF₃O için hesaplanan: 353.98671; bulunan: 353.9858.



Şekil 4.22. Bileşik 16'nın ¹H NMR Spektrumu



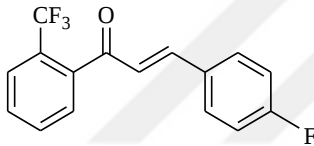
Şekil 4.23. Bileşik 16'nın ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.24. Bileşik 16'nın HRMS Spektrumu

4.1.7. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4''-floro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (17) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 90:10, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 28) ile saflaştırıldı. Bileşik 17, (114.5 mg) % 66.35 verimle açık sarı renkli viskoz sıvı madde olarak elde edilmiştir.

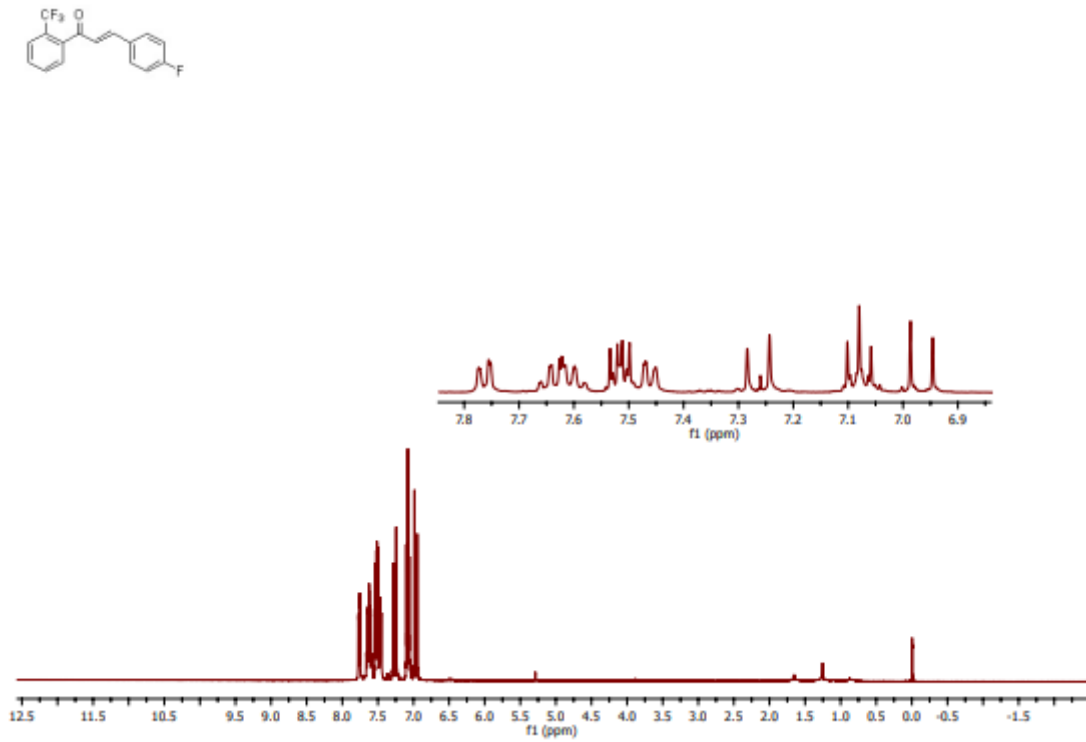


Şekil 4.25. Bileşik 17'nin Kimyasal Yapısı

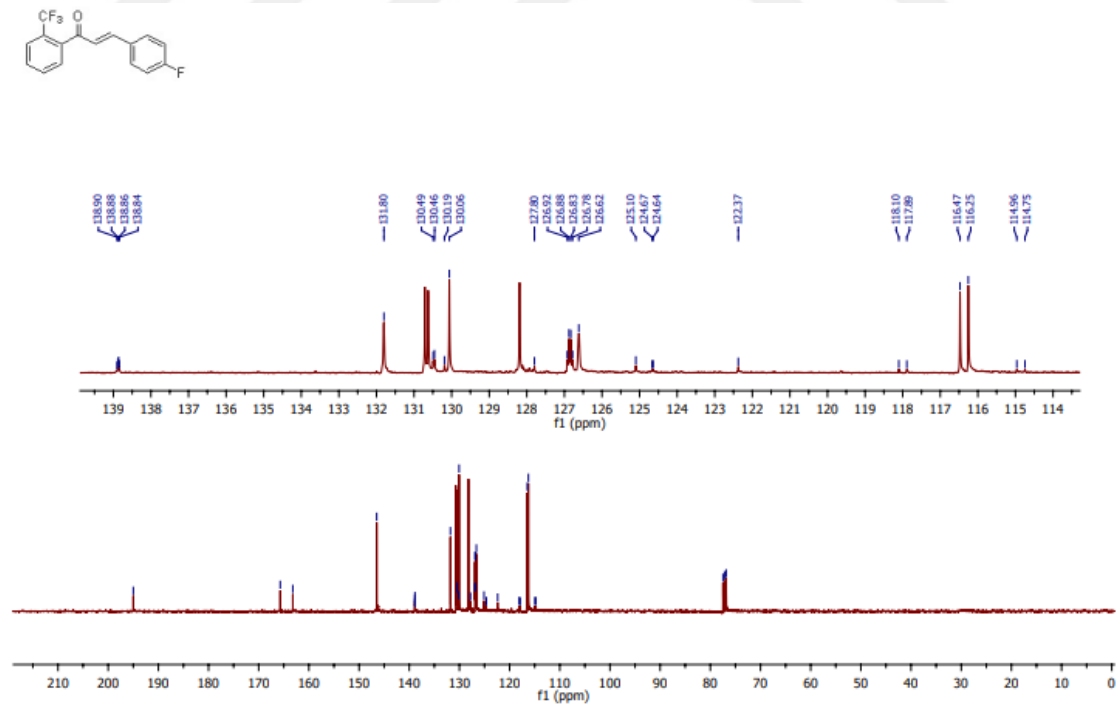
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77-7.75 (m, 1H), 7.68 – 7.57 (m, 2H), 7.55 – 7.48 (m, 2H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_β), 7.11-7.04 (m, 2H), 6.97 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 195.00 (C=O), 164.46 (d, *J*_{C,F} = 253.0 Hz), 146.48, 138.87 (q, *J*_{C,F} = 2.1 Hz), 131.80, 130.67 (d, *J*_{C,F} = 8.8 Hz), 130.47 (d, *J*_{C,F} = 3.4 Hz), 130.06, 126.85 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz), 128.19, 128.02, 126.39 (q, *J*_{C,F} = 262.0 Hz), 124.65 (d, *J*_{C,F} = 3.1 Hz), 118.00 (d, *J*_{C,F} = 21.4 Hz), 116.36 (d, *J*_{C,F} = 22.1 Hz), 114.86 (d, *J*_{C,F} = 21.9 Hz).

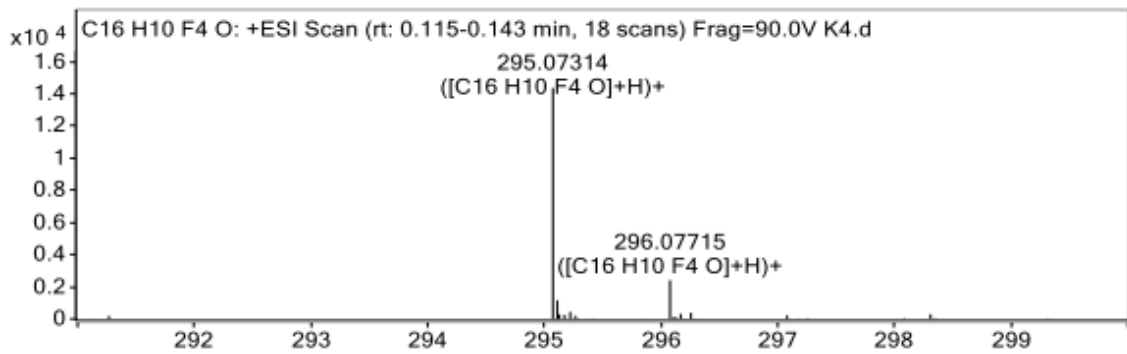
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀F₄O için hesaplanan: 294.06678; bulunan: 294.06596.



Şekil 4.26. Bileşik 17'nin ¹H NMR Spektrumu



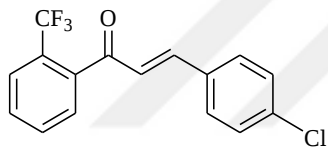
Şekil 4.27. Bileşik 17'nin ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.28. Bileşik 17'nin HRMS Spektrumu

4.1.8. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4''-kloro)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (18) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 90.4:9.6, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 28) ile saflaştırıldı. Bileşik 18, (129 mg) % 70.82 verimle sarı renkli, viskoz sıvı madde olarak elde edildi.

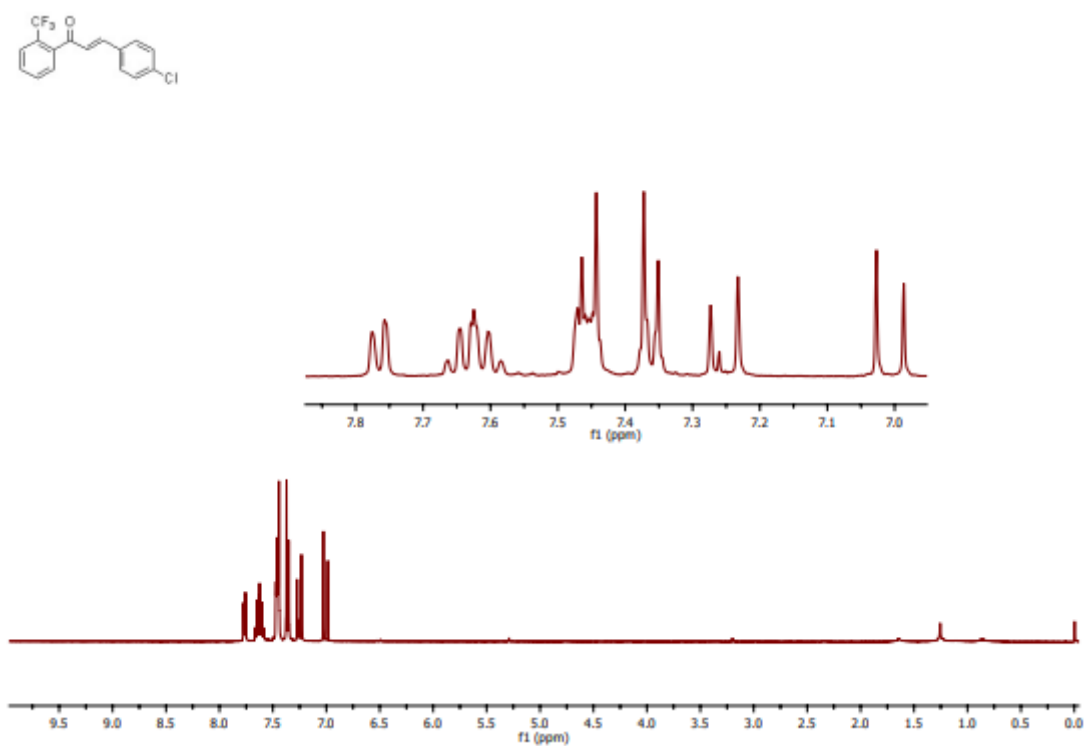


Şekil 4.29. Bileşik 18'in Kimyasal Yapısı

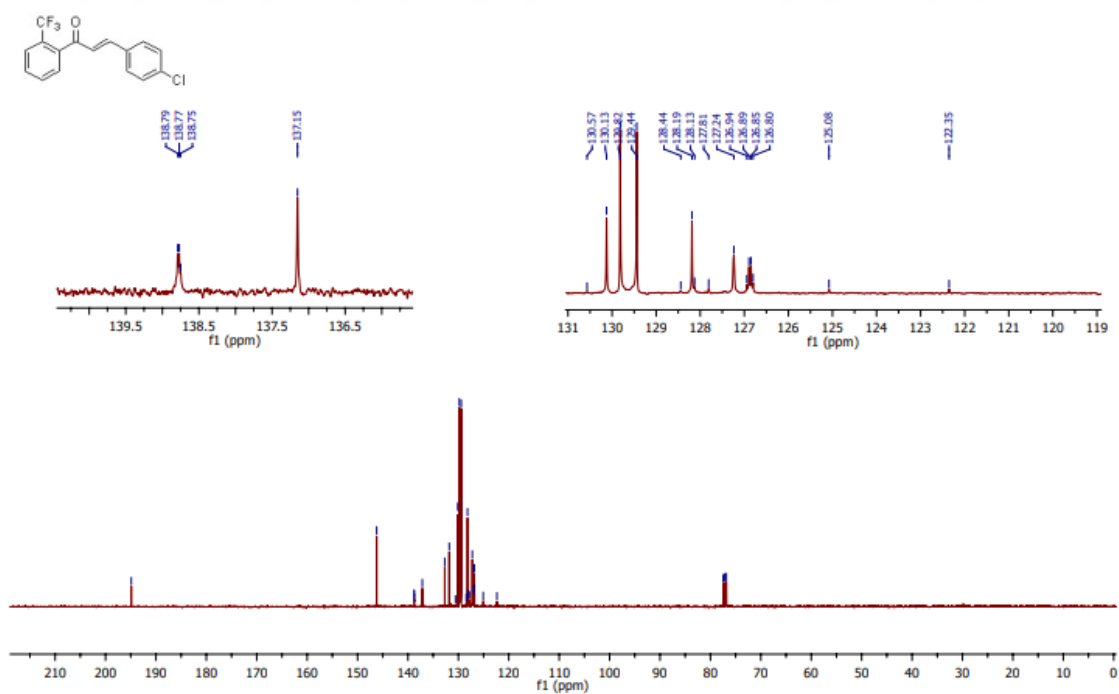
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.70 – 7.57 (m, 2H), 7.45 (d, *J* = 8.6 Hz, 3H), 7.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_β), 7.01 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 194.89, 146.21, 138.77 (q, *J*_{C,F} = 2.0 Hz), 137.15, 132.70, 131.82, 130.13, 129.82, 129.44, 128.28 (q, *J*_{C,F} = 31.5 Hz), 128.19, 127.24, 126.85 (q, *J*_{C,F} = 275.3 Hz), 126.87 (q, *J*_{C,F} = 4.7 Hz).

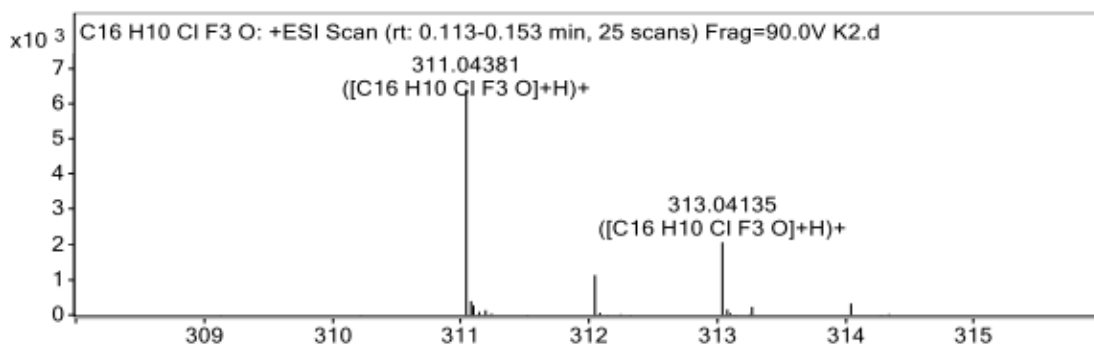
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆ H₁₀ClF₃O için hesaplanan: 310.03723; bulunan: 310.0365.



Şekil 4.30. Bileşik 18'in ¹H NMR Spektrumu



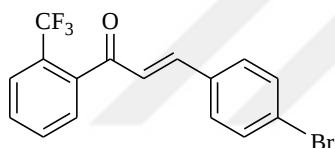
Şekil 4.31. Bileşik 18'in ¹³C NMR Spektrumu



Şekil 4.32. Bileşik 18'in HRMS Spektrumu

4.1.9. 1-(2'-triflorometil)fenil-3-(4''-bromo)fenil-2-propen-1-on Bileşiğinin (19) Sentezi

Ham ürün preparatif HPLC (*n*-hekzan /etilasetat 92:8, 254 nm, akış hızı: 8 mL/min, 24 °C, majör dk: 22) ile saflaştırıldı. Kalkon bileşiği **19**, (98 mg) % 49.41 verimle sarı renkli, viskoz sıvı madde olarak elde edildi.

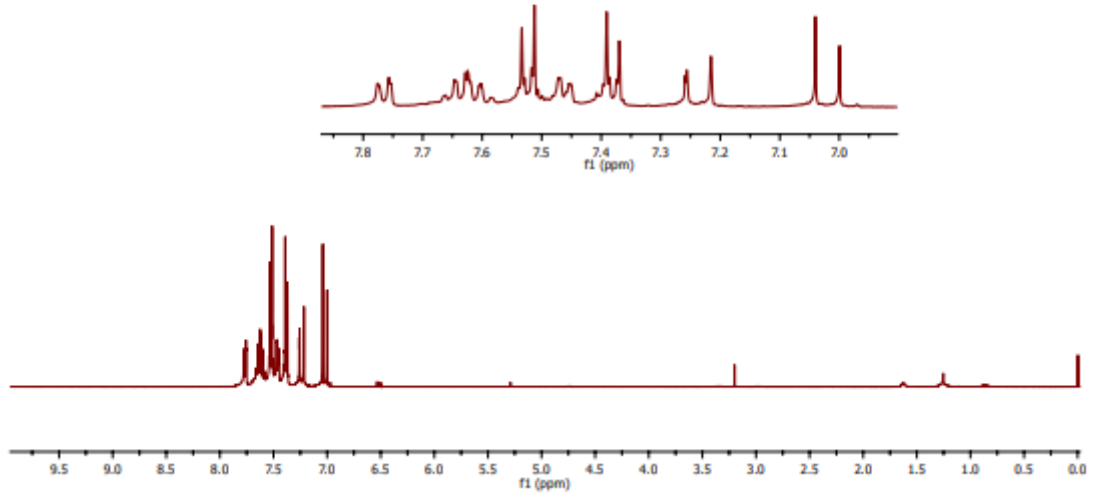
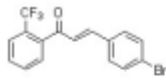


Şekil 4.33. Bileşik 19'un Kimyasal Yapısı

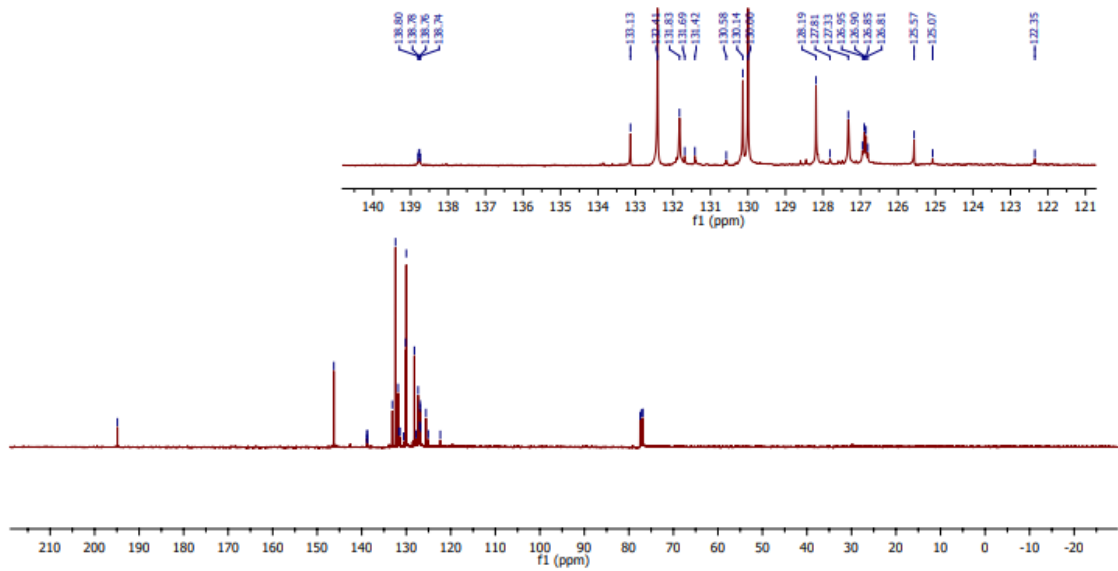
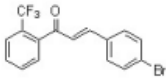
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.68 – 7.59 (m, 2H), 7.54-7.51 (m, 2H), 7.47 – 7.45 (m, 1H), 7.41-7.36 (m, 2H), 7.24 (d, J = 16.3 Hz, 1H, H_β), 7.02 (d, J = 16.3 Hz, 1H, H_α).

¹³C NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 194.88 (C=O), 146.26, 138.77 (q, J_{C,F} = 2.2 Hz), 133.13, 132.41, 131.83, 131.55 (q, J_{C,F} = 27.4 Hz), 130.14, 130.0, 128.19, 127.33, 125.57, 126.45 (q, J_{C,F} = 275.8 Hz), 126.88 (q, J_{C,F} = 4.7 Hz).

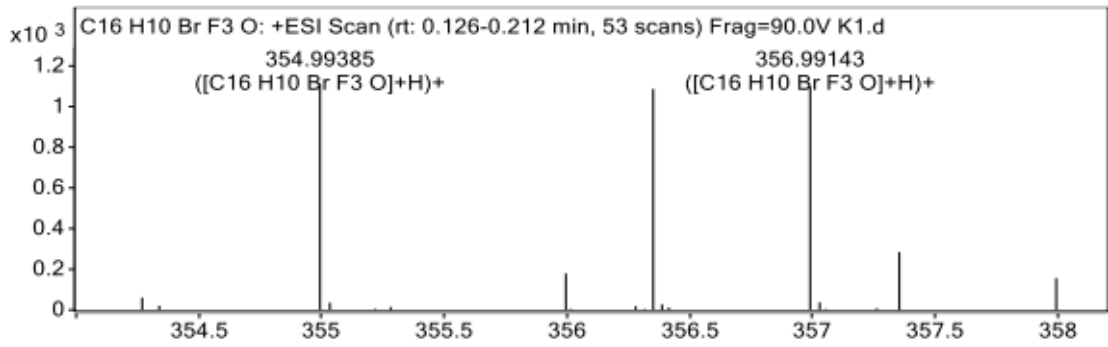
HRMS (ESI-MS) m/z: [M+H]⁺ C₁₆H₁₀BrF₃O için hesaplanan: 353,98671; bulunan: 353,98619.



Şekil 4.34. Bileşik 19'un ¹H NMR Spektrumu



Şekil 4.35. Bileşik 19'un ¹³C NMR Spektrumu



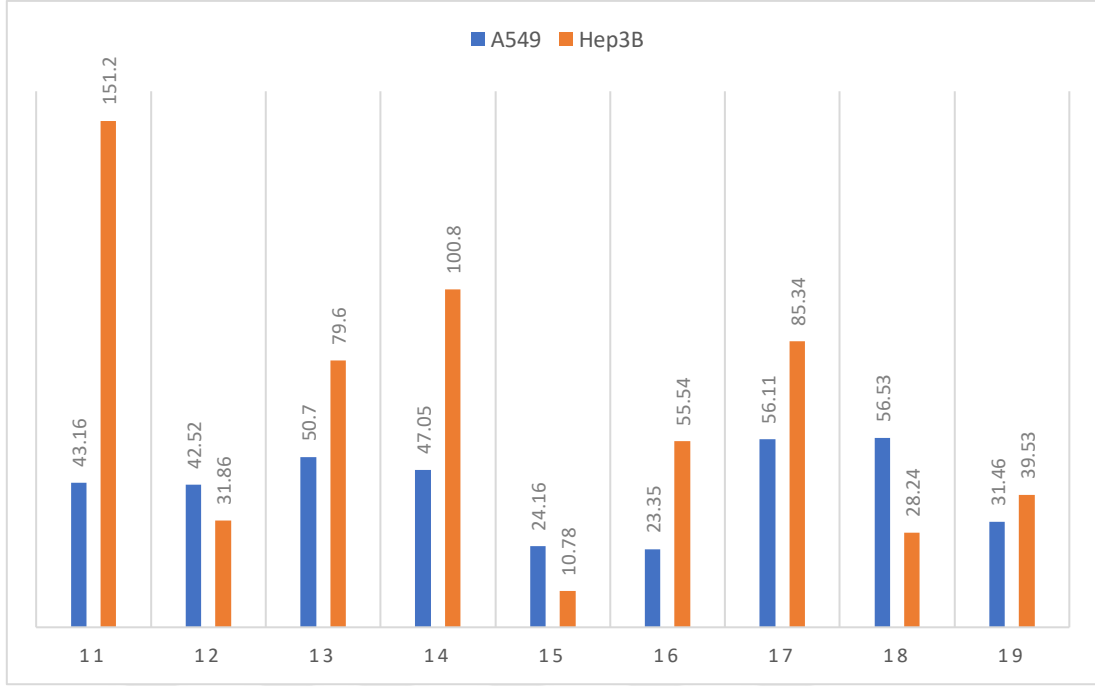
Şekil 4.36. Bileşik 19'un HRMS Spektrumu

4.2. Sentezlenen Bileşiklerin (Bileşik 11-19) Sitotoksosite Tayini Sonuçları

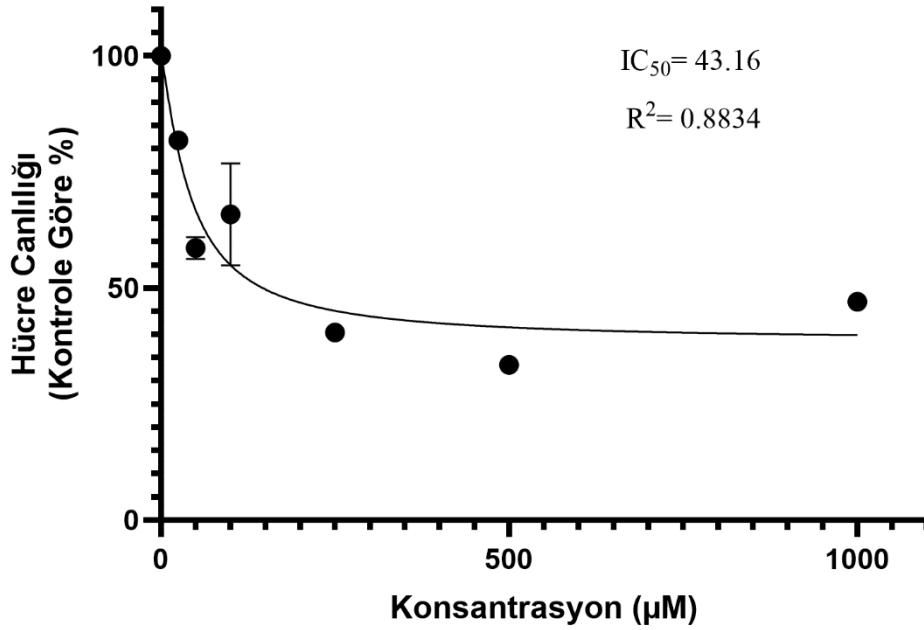
A549 ve Hep3B hücreleri **11-19** no'lu bileşiklere 24 saat süre ile farklı dozlara (0-1000 μ M) maruz bırakılmıştır. Test maddelerinin MTT yöntemi ile hücre canlılığı üzerine etkileri belirlenmiştir. Sitotoksosite deneyleri, gün içinde iki tekrar ve üç farklı zamanda yapılmıştır. Hücre canlılıkları negatif kontrol hücrelerine göre % olarak belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre hücre canlılığında %50 azalmaya neden olan konsantrasyon (medyan inhibitör konsantrasyon, IC₅₀) değerleri hesaplanmıştır (Tablo 4.1) (Şekil 4.2).

Tablo 4.1. Sentezlenen Bileşiklerin IC₅₀ Değerleri (IC₅₀ µM ±SS)

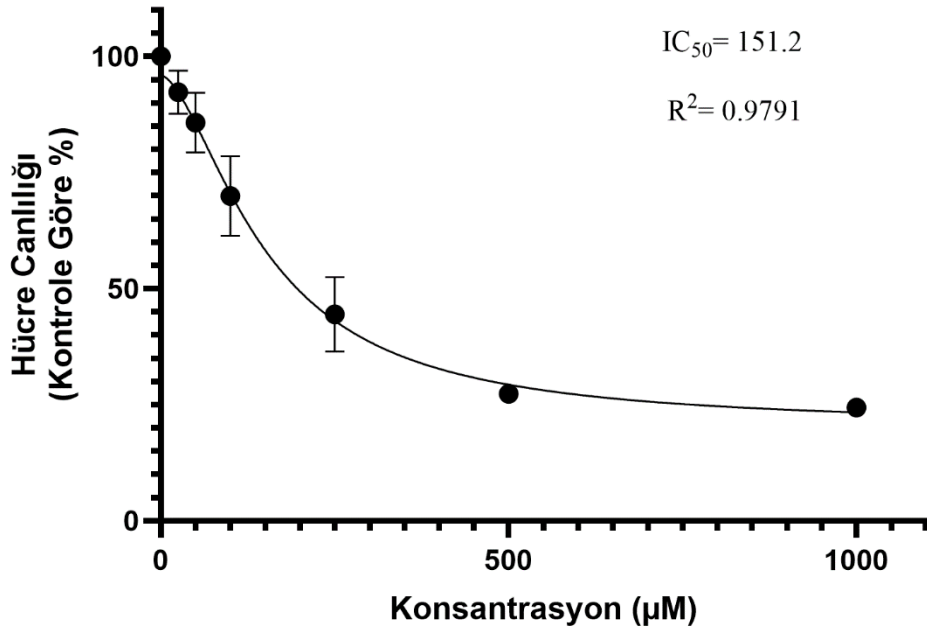
BİLEŞİK	FONKSİYONEL GRUP	A549 (µM)	Hep3B (µM)
11	2-F	43,16 ± 8,9	151,2 ± 5,0
12	2-Cl	42,52 ± 5,5	31,86 ± 5,3
13	2-Br	50,70 ± 5,4	79,60 ± 4,3
14	3-F	47,05 ± 3,2	100,8 ± 11,0
15	3-Cl	24,16 ± 4,2	10,78 ± 13,4
16	3-Br	23,35 ± 4,1	55,54 ± 5,8
17	4-F	56,11 ± 8,8	85,34 ± 9,6
18	4-Cl	56,53 ± 6,2	28,24 ± 6,5
19	4-Br	31,46 ± 4,8	39,53 ± 3,7
Doksorubisin		15.55 ± 0.6	0.54 ± 0.3



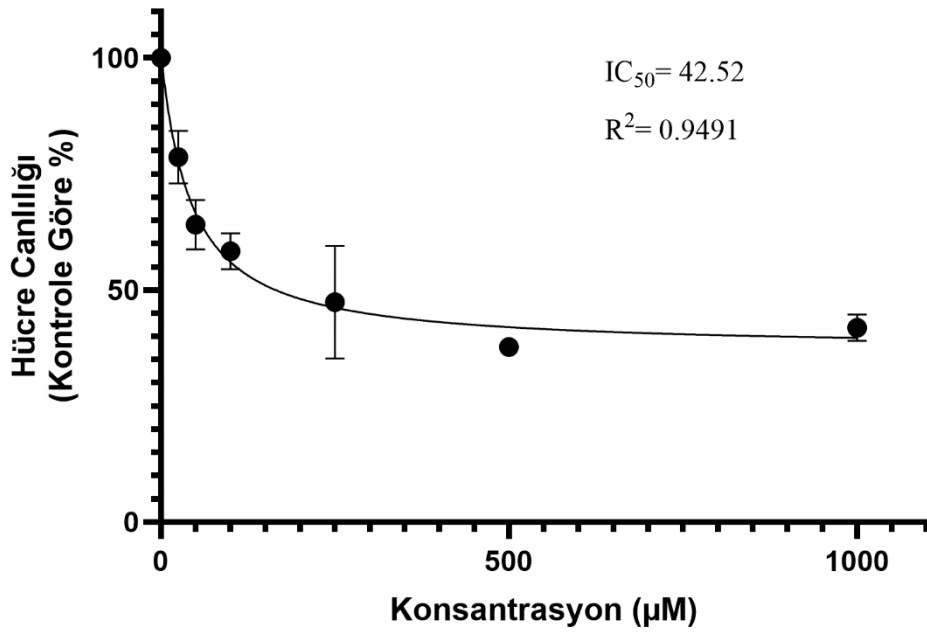
Şekil 4.37. Sentezlenen Bileşiklerin (11-19) A549 ve Hep3B Hücre Hatlarında Gösterdikleri IC_{50} μM Değerlerinin Kümelenmiş Sütun Grafiği



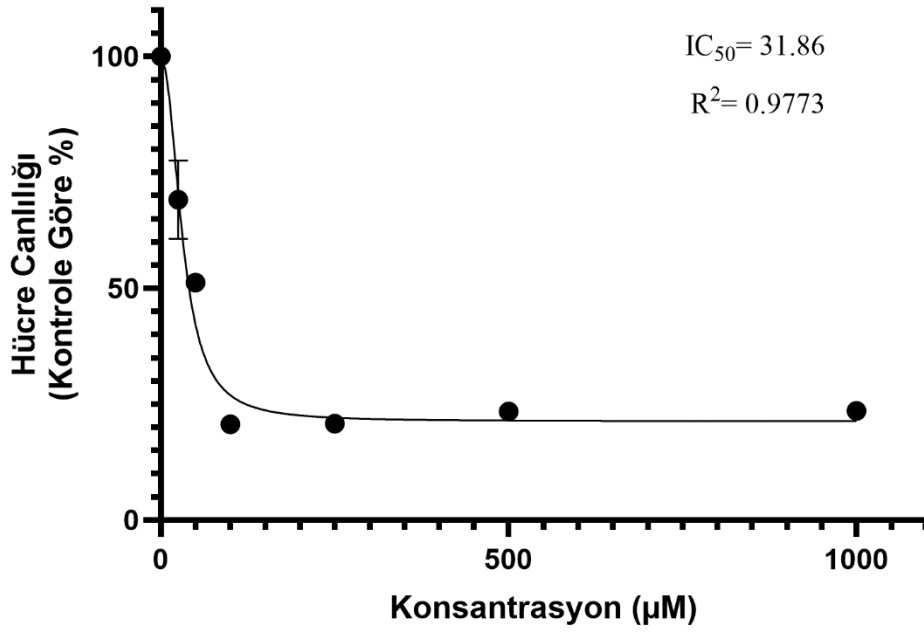
Şekil 4.38. Bileşik 11'in A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



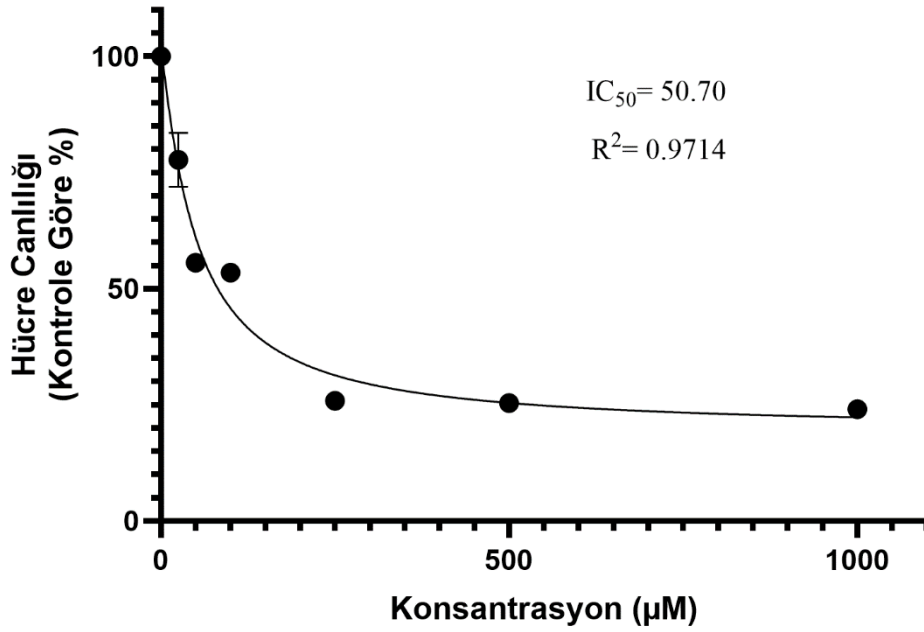
Şekil 4.39. Bileşik 11'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



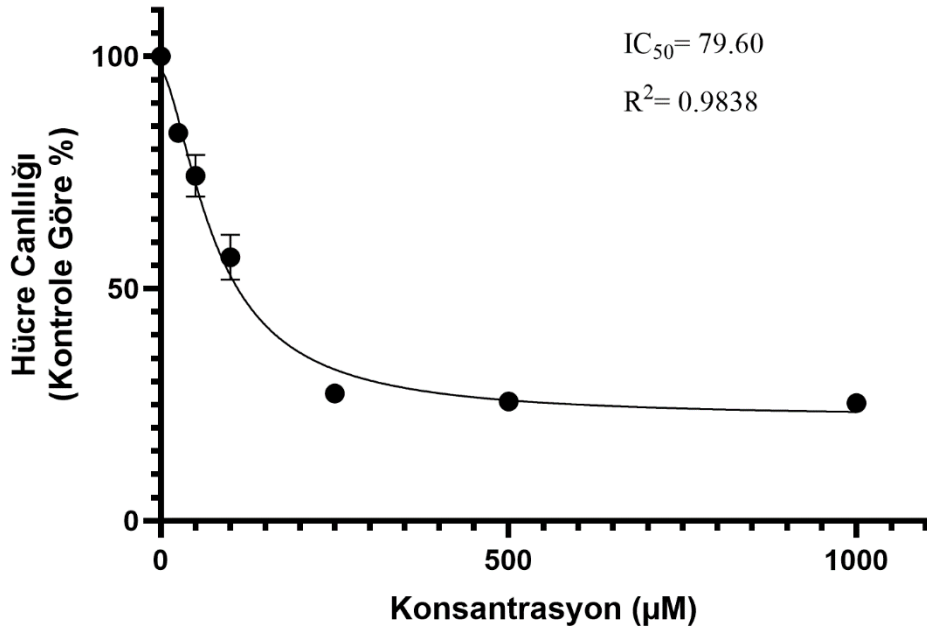
Şekil 4.40. Bileşik 12'nin A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



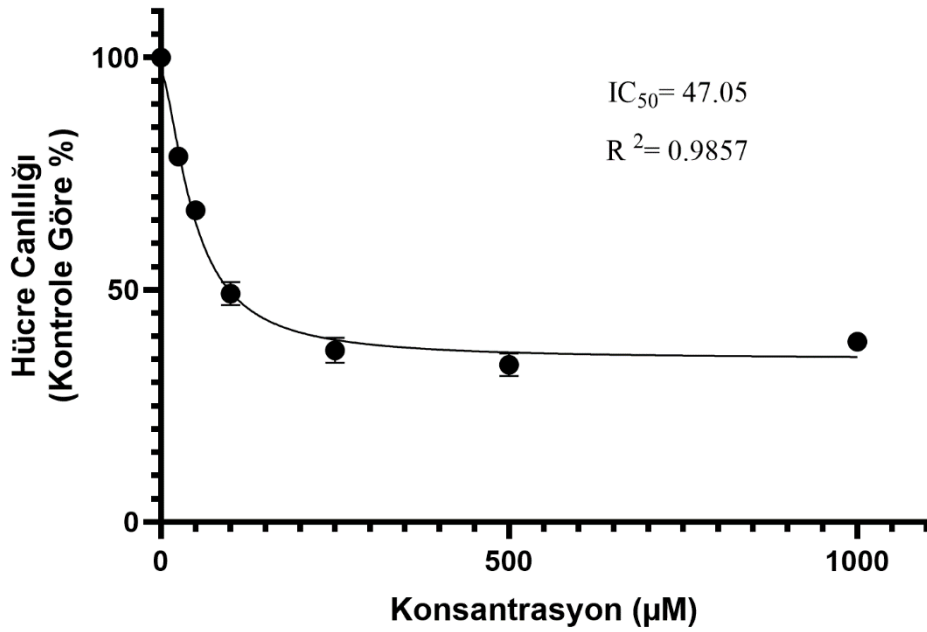
Şekil 4.41. Bileşik 12'nin Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



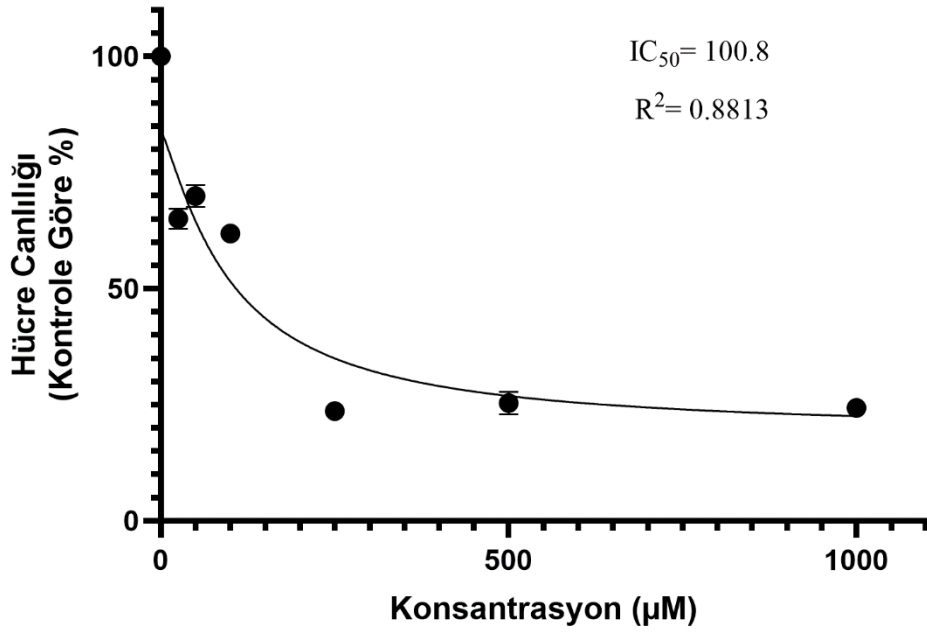
Şekil 4.42. Bileşik 13'ün A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



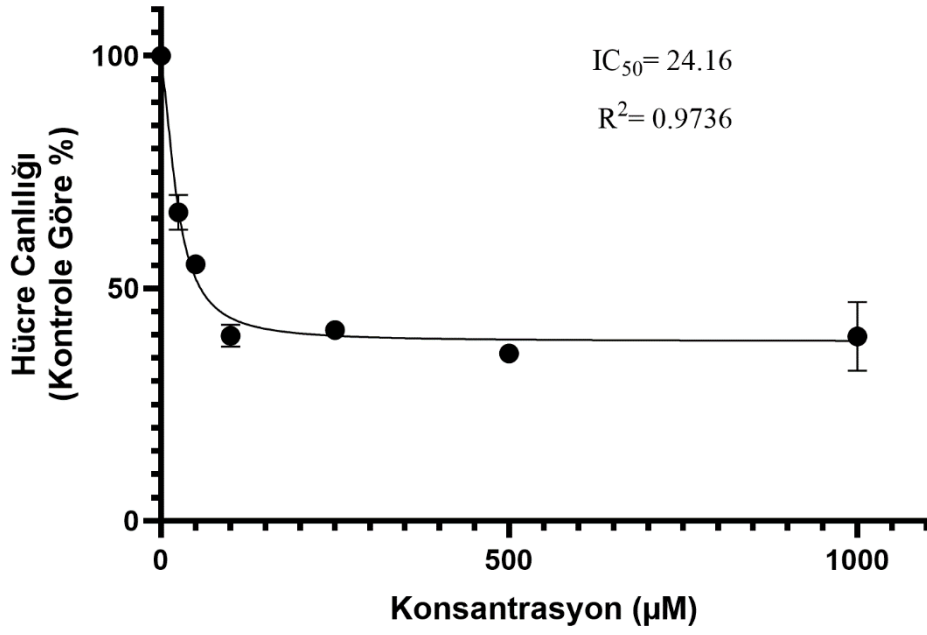
Şekil 4.43. Bileşik 13'ün Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



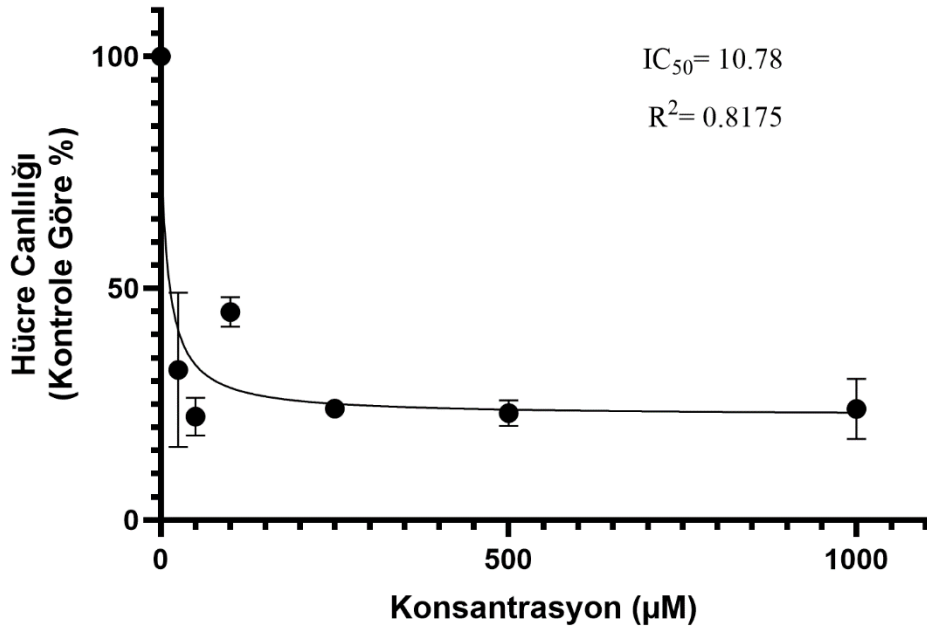
Şekil 4.44. Bileşik 14'ün A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



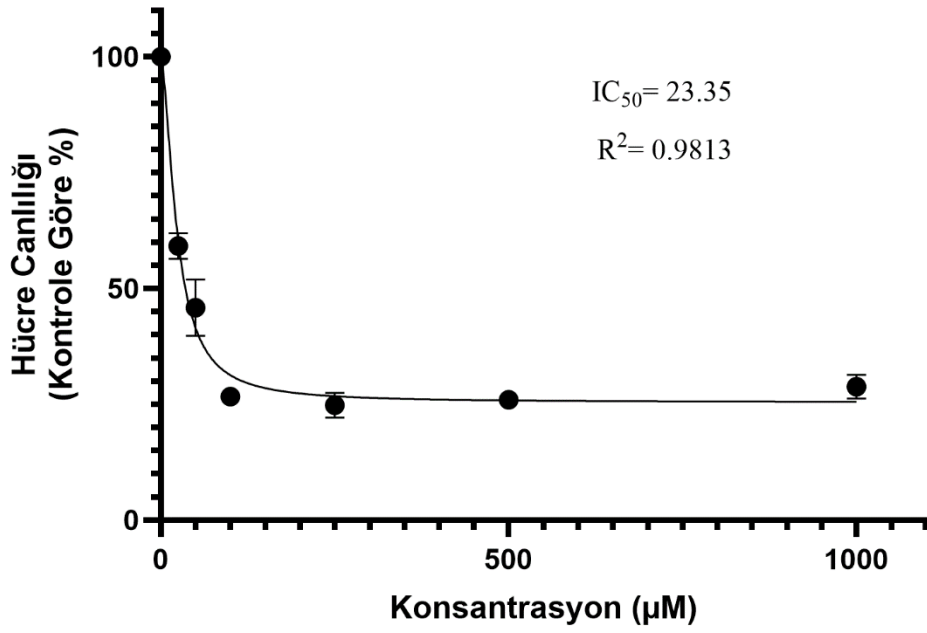
Şekil 4.45. Bileşik 14'ün Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



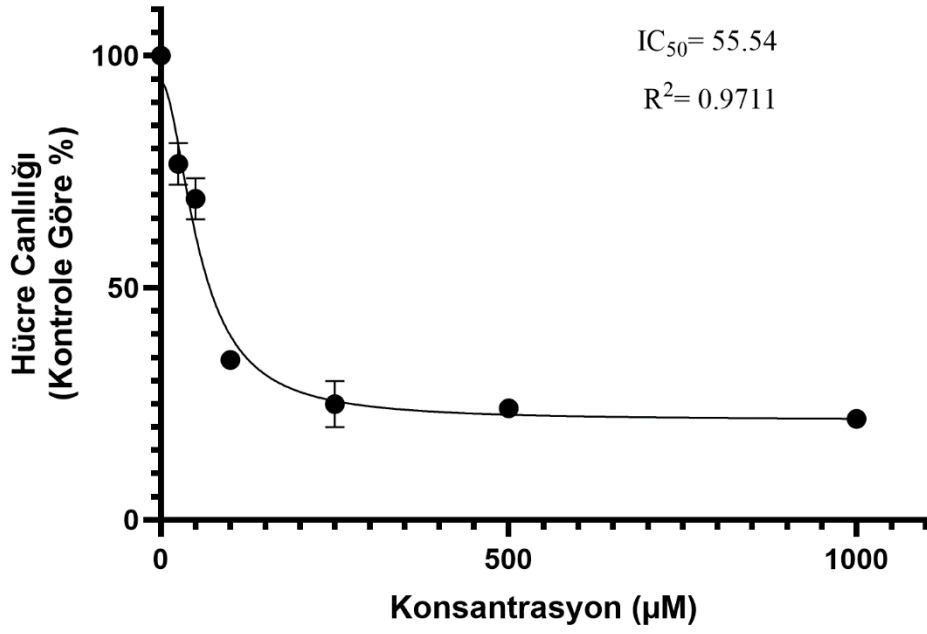
Şekil 4.46. Bileşik 15'in A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



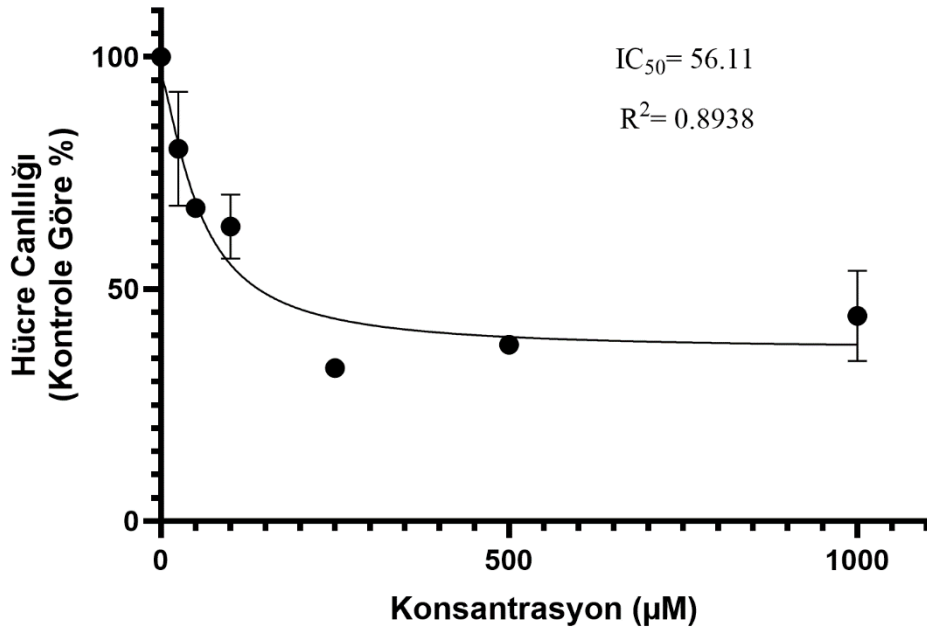
Şekil 4.47. Bileşik 15'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



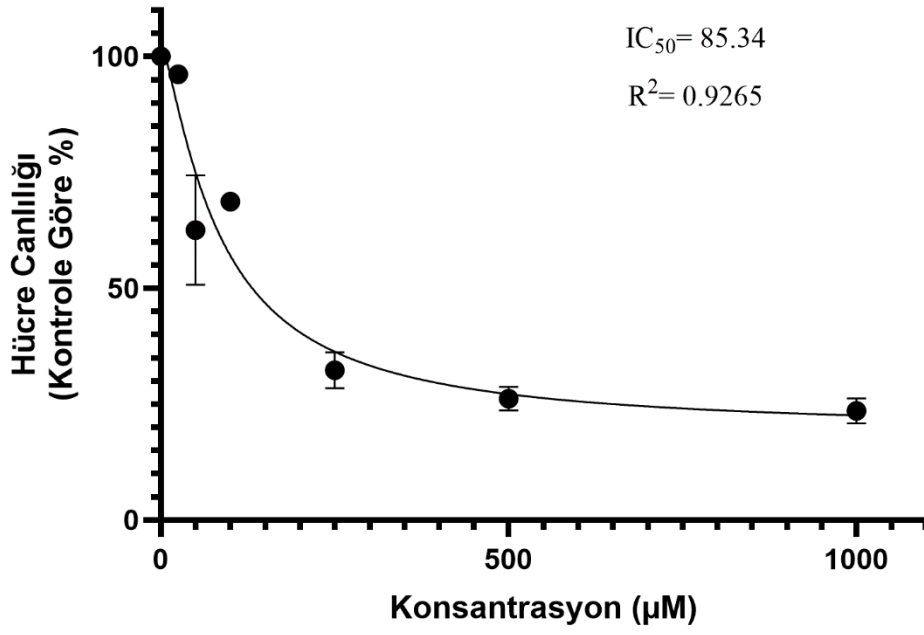
Şekil 4.48. Bileşik 16'nın A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



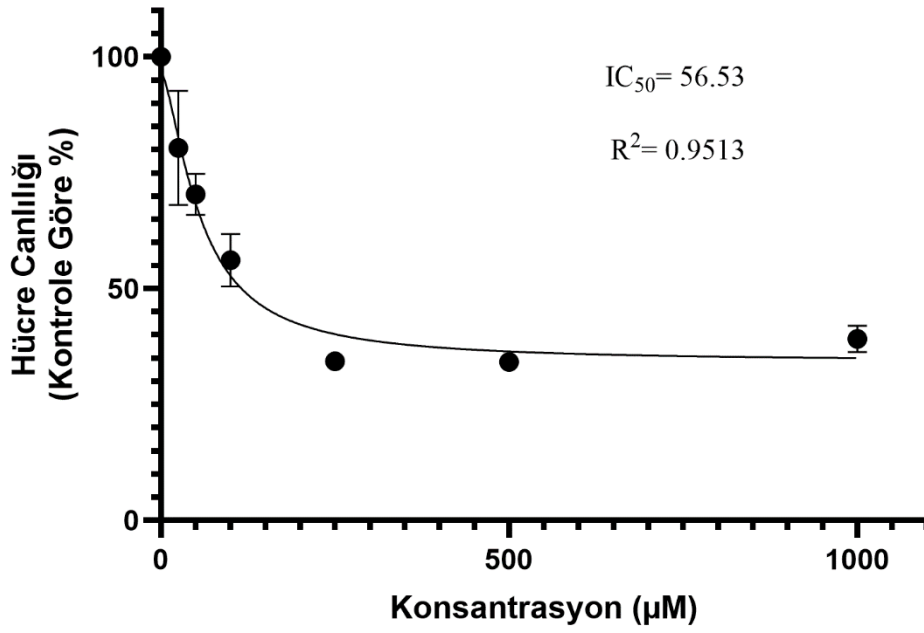
Şekil 4.49. Bileşik 16'nın Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



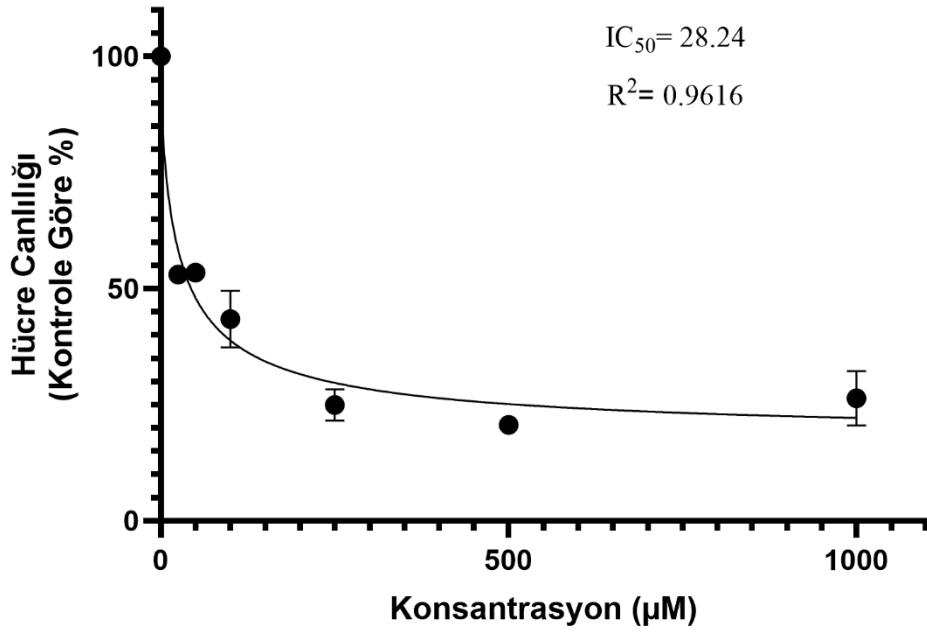
Şekil 4.50. Bileşik 17'nin A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



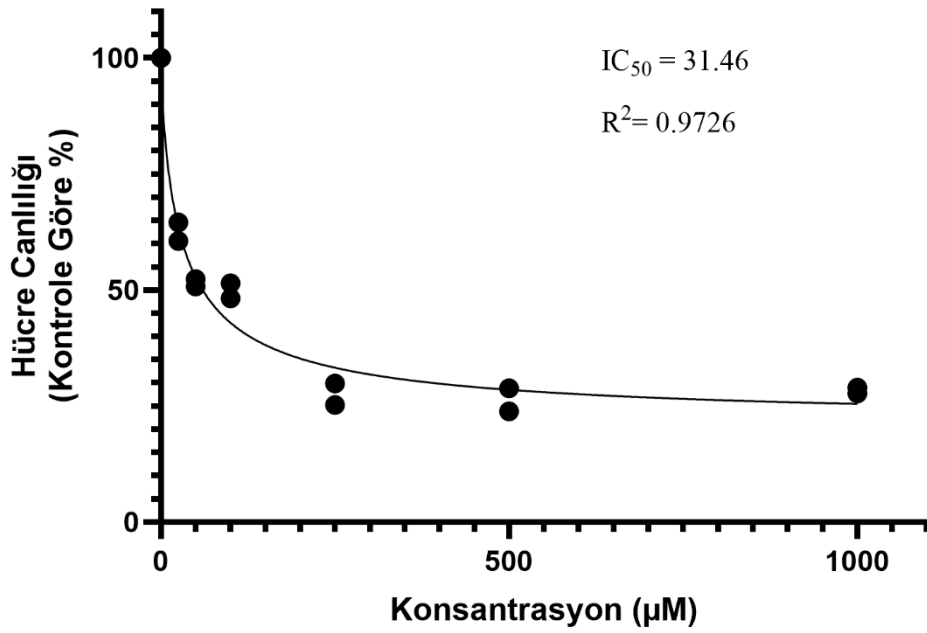
Şekil 4.51. Bileşik 17'nin Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



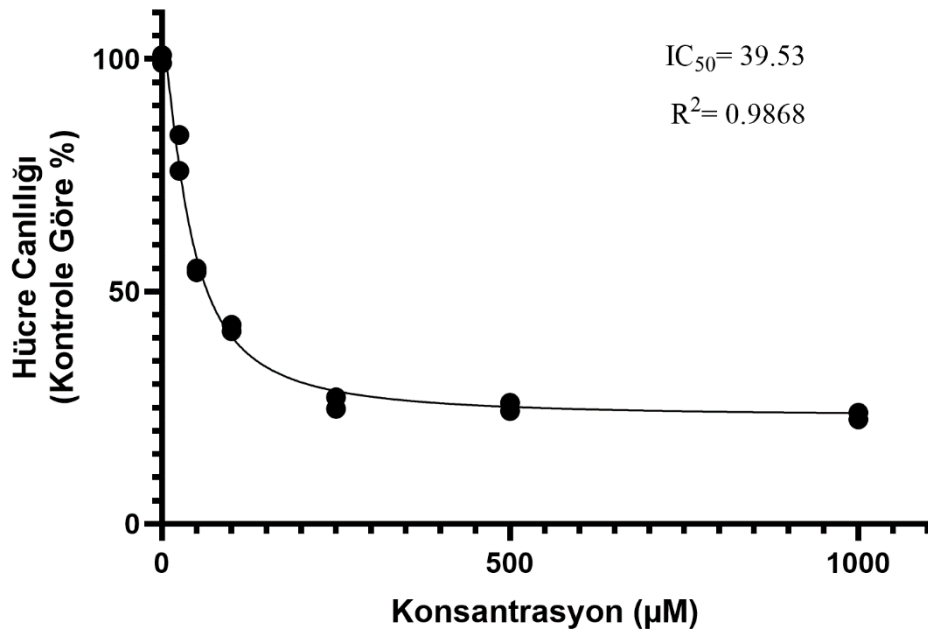
Şekil 4.52. Bileşik 18'in A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.53. Bileşik 18'in Hep3B Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.54. Bileşik 19'un A549 Hücre Hattında 0-1000 μM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi



Şekil 4.55. Bileşik 19'un Hep3B Hücre Hattında 0-1000 µM Konsantrasyonda Canlılığa Etkisi

5. TARTIŞMA

5.1. Bileşiklerin Sentezlerine İlişkin Tartışma

Bu tez çalışması kapsamında, kalkon türevi 9 bileşik sentezlenmiştir. Sentez ve spektral sonuçları bulgular kısmında verilmiştir. Bileşiklerden sadece 3-Cl ve 3-Br türevleri literatürde bilinmekte fakat 3-Cl türevinin kayıtlı literatürü bulunmamaktadır. Rasool ve ark., (2021) yayınladıkları çalışmada 3-Br türevi bileşikler sentezlenmiş ve somon spermi DNA'sı ile etkileşimini incelemişlerdir. Ayrıca aynı çalışma içerisinde bu bileşiklerin üreaz inhibisyonu ve antioksidan potansiyelini değerlendirmişlerdir. Rasool ve ark., (2023) yayınladıkları diğer çalışmada ise 3-Br türevi bileşik çalışmalarında başlangıç maddesi olarak kullanılmıştır. Tez çalışmasında sentezlenen diğer 7 bileşik orjinaldir ve 9 bileşiğin antikanser aktiviteleri ilk kez bu tez çalışmasında raporlanmıştır.

Sentezlenen 9 bileşiğin (11-19) kimyasal yapıları ¹H NMR, ¹³C NMR ve HRMS spektral analiz teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Kalkon türevlerinin sentezi, 2-(triflorometil)asetofenon ve uygun aromatik aldehit türevlerinin Claisen Schmidt kondenzasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşikler ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir. Reaksiyonlar %33.70-81 verimle gerçekleşmiştir. Bileşiklerin tamamı kolon kromatografisi ve ardından preparatif HPLC ile saflaştırılmıştır.

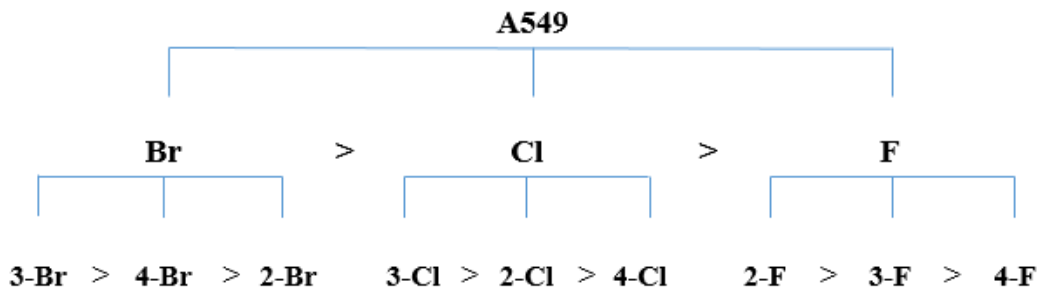
5.2. Bileşiklerin Biyoaktivitelerine İlişkin Tartışma

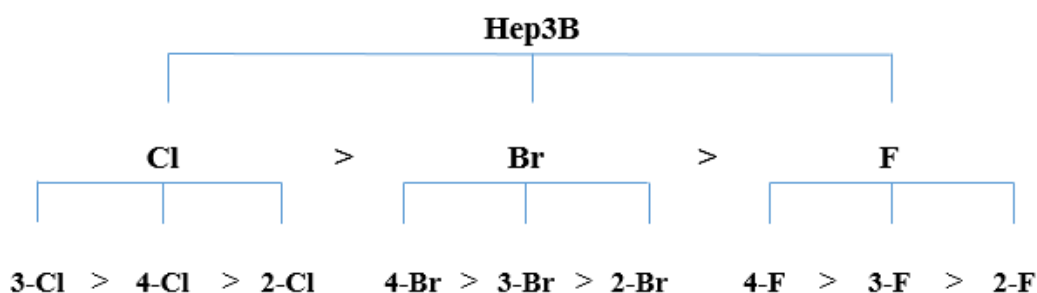
Flor ve halojen atomları, kalkon türevlerinin antikanser aktivitesini önemli ölçüde etkileyen yapısal modifikasyonlar arasında yer almaktadır. Literatürde yer alan çalışmalarda, özellikle B halkasında flor, klor ve bromo gibi elektron çekici grupların antiproliferatif etkiyi artırdığı gösterilmiştir. Nakamura ve ark. (2002), yayınladıkları çalışmada flor içeren kalkon türevlerinin 39 farklı insan kanser hücre hattında güçlü antiproliferatif etki gösterdiğini bildirmiş, bazı türevlerin IC₅₀ değerlerinin 10⁻⁸ M seviyelerine kadar düştüğünü göstermiştir. Burmaoğlu ve ark. (2020) çalışmalarında 2,5-diflorosübstitüe kalkonların A549 ve A498 hücrelerinde etkinliği artırdığını rapor

etmişlerdir. Kloro sübstitüe kalkonlar üzerine yapılan çalışmalarda ise, örneğin Solomon ve ark. (2012), 4-kloro substitüsyonun özellikle MDA-MB468 hücrelerinde sisplatinden daha güçlü etki sağladığını göstermiştir. Özellikle fenil halkasının dördüncü konumunda

floro, kloro ve bromo sübstitüelerini içeren kalkon bileşikleri, MDA-MB468 kanser hücrelerinde kloro > bromo > floro şeklindeki sırayla artan anti-proliferatif aktivite gösterdiklerini raporlamışlardır. Polat ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada, B halkasının çeşitli pozisyonlarına CF₃ veya F grupları yerleştirilmiş trimetoksi kalkon serisi içerisinde A549 hücre hattı üzerinde tek CF₃ sübstitüesine kıyasla 2-F ve 3-F ikamelerinin sitotoksik etkiyi artırdığını göstermişlerdir. Aynı zamanda Flor atomunun 3. Pozisyonda bulunmasının etkiyi bir miktar daha artırdığı görülmektedir. Saito ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada α-CF₃ içeren kalkonlar A549, MDA-MB-231, MCF-7, KB ve ilaç dirençli KB-VIN hücre hatlarında da test etmişlerdir. Elektron çekici gruplar taşıyan bileşiklerin (özellikle 4-NO₂, 4-CF₃, 3,4-difloro) daha güçlü etki gösterdiğini raporlamışlardır.

Bu literatür bulguları ışığında, tez çalışmasında sentezlenen 2-(triflorometil)asetofenon'a karşılık, B halkasında konumu ve türü değişen halojen substitüentlerine sahip dokuz kalkon türevi A549 ve Hep3B hücre hatlarında antiproliferatif etkileri açısından değerlendirilmiştir. Kalkon yapısındaki halojenlerin tür ve sübstitüsyon konumlarına göre A549 ve Hep3B hücre hatlarındaki sitotoksikite karşılaştırmaları şematize edilmiştir (Şekil 5.1).





Şekil 5.1. Kalkon Yapısındaki Halojenlerin Tür ve Süstitüsyon Konumlarına Göre A549 ve Hep3B Hücre Hatlarındaki Sitotoksiste Karşılaştırmaları

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek etki, 3'-kloro substitüe olan bileşik **15**'te gözlemlenmiş olup, bu bileşik A549 hücre hattında $24.16 \pm 4.2 \mu\text{M}$ ve Hep3B hattında $10.78 \pm 13.4 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri göstermiştir. Klor süstitüe kalkonlar arasında aynı zamanda 2'-kloro türevi Bileşik **12**, A549 hücre hattında $42.52 \pm 5.5 \mu\text{M}$ ve Hep3B hücre hattında $31.86 \pm 5.3 \mu\text{M}$ IC_{50} değeri göstermiştir. 4'-kloro türevi Bileşik **18**, A549 hücre hattında $56.53 \pm 6.2 \mu\text{M}$ ve Hep3B hücre hattında $28.24 \pm 6.5 \mu\text{M}$ değerleri ile kayda değer düzeyde antiproliferatif aktivite göstermiştir. Kendi aralarında A549 hücre hattında sitotoksiteleri 3-Cl (**15**) > 2-Cl (**12**) > 4-Cl (**18**) şeklinde sıralanırken, Hep3B hücre hattında 3-Cl (**15**) > 4-Cl (**18**) > 2-Cl (**12**) şeklindedir. Bu verilerle, klor grubunun B halkasında farklı konumlarda da etkili olabildiğini ancak süstitüsyon yeri kadar uygulandıkları hücre hattının da sitotoksitelerindeki önemini ortaya koymaktadır.

Flor içeren türevlerin etkisi nispeten diğer türevlere göre alt düzeyde kalmıştır. A549 hücre hattında en etkili floro türevi 2-floro içeren bileşik **11**, $43.16 \pm 8.9 \mu\text{M}$ seviyesinde olmuştur. Ancak bileşik **11**, Hep3B hücre hattındaki IC_{50} değeri $151,2 \pm 5.0 \mu\text{M}$ ile en az etkili türev olmuştur. Hep3B hücre hattında en iyi sitotoksik etkiyi gösteren 4-floro türevi bileşik **17**, $85.34 \pm 9.6 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarda etkide bulunurken A549 hücre hattında $56,11 \pm 8,8 \mu\text{M}$ konsantrasyonlar en az etkili bileşik olmuştur. 3- floro türevi olan bileşik **14**, hem A549 hücre hattında $47,05 \pm 3,2 \mu\text{M}$, hem de Hep3B hücre hattında $100,8 \pm 11,0 \mu\text{M}$ IC_{50} değerleri ile orta düzeyde etkinlik göstermiştir. Kendi aralarında A549 hücre hattında sitotoksiteleri 2-F (**11**) > 3-F (**14**) > 4-F (**17**) şeklinde sıralanırken, Hep3B hücre hattında 4-F (**17**) > 3-F (**14**) > 2-F (**11**) şeklindedir. Bu durum, flor grubunun pozisyonunun

biyolojik etki üzerinde bir etkisinin olduğunu, farklı bölgelerde sübstitüsyonunun farklı hücre hatlarına karşı daha etkili olabileceğini ve literatür bilgileri ışığında flor atomunun di-sübstitüeli türevlerinin ya da başka elektron çekici gruplarla kombine edilmesinin daha başarılı sonuçlar doğurabileceğini düşündürmektedir.

Benzer şekilde, A549 hücre hattında 3'-bromo türevi olan bileşik **16**, $23,35 \pm 4,1 \mu\text{M}$ tüm türevler arasında en etkili türev olmuştur. 2-bromo türevi olan bileşik **13**, A549 hücre hattında $50,70 \pm 5,4 \mu\text{M}$ ve Hep3B hücre hattında $79,60 \pm 4,3 \mu\text{M}$ ile en az etkili bromo türevi bileşik olmuştur. 4-bromo türevi olan bileşik **19** ise bromo türevleri arasında Hep3B hücre hattında $39,53 \pm 3,7 \mu\text{M}$ ile en etkili bileşik olurken A549 hücre hattında $31,46 \pm 4,8 \mu\text{M}$ IC₅₀ değeri ile etkisi orta düzeyde kalmıştır. Kendi aralarında A549 hücre hattında sitotoksiteleri 3-Br (**16**) > 4-Br (**19**) > 2-Br (**13**) şeklinde sıralanırken, Hep3B hücre hattında 4-Br (**19**) > 3-Br (**16**) > 2-Br (**13**) şeklindedir. Bu durum brom sübstitüsyonunun özellikle kanserli hücre hatlarında kayda değer bir antiproliferatif aktivitesinin olduğunu ve farklı hücre hatlarında farklı konumlardaki sübstitüsyonunun önemini ortaya koymaktadır.

Literatürde klorun flor ve brom'a göre daha güçlü antiproliferatif etki sağlayabileceğine yönelik bulgularla uyumlu olarak, bu çalışmada da klor substitüentleri genel olarak daha yüksek biyolojik aktivite sergilemiştir. Özellikle A549 hücre hattında brom sübstitüeli bileşikler daha etkin olurken, klor sübstitüeli tüm bileşikler her iki hücre hattında kayda değer yüksek aktivite sergilemişlerdir. Tez çalışmamın sonucunda A549 hücre hattında etki gücünü Br > Cl > F ve Hep3B hücre hattında etki gücünü Cl > Br > F şeklinde sıralanabileceği gösterildi. Elde edilen IC₅₀ değerleri literatürde bildirilen bazı güçlü bileşiklerle kıyaslandığında daha yüksek olmakla birlikte, sentezlenen bileşiklerin konuma özgü etki desenleri, klor ve brom atomlarının antikanser aktivite çalışmalarında moleküler yerleştirmelerde kullanılması ve potansiyel hücre seçiciliği açısından yeni yapısal optimizasyonlar için temel teşkil edebileceği değerlendirilmektedir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, 2'-triflorometil grubu sabit olan ve B halkasında flor, klor ve brom gibi farklı halojen sübstitüentleri farklı konumlara yerleştirilmiş dokuz yeni kalkon türevi sentezlenmiş ve bu bileşiklerin A549 ve Hep3B hücre hatlarındaki antiproliferatif etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen biyolojik aktivite sonuçları, halojen grubunun türü kadar B halkasındaki konumunun da antiproliferatif etki üzerinde belirleyici olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle 3-kloro sübstitüe bileşik **15**, her iki hücre hattında da yüksek antiproliferatif aktivite göstermiştir. Brom gruplarında ise yine yüksek aktiviteler elde edilirken, flor sübstitüentleri ise genel olarak daha düşük aktivite sergilemişlerdir. Sonuç olarak, kalkon yapısında B halkasına 3 konumunda klor ve brom eklenmesinin antiproliferatif potansiyeli artırabileceği, bu nedenle bu tür yapısal modifikasyonların hedefe yönelik antikanser ilaç tasarımında dikkate alınması gerektiği değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

- Al Zahrani, N. A., El-Shishtawy, R. M., Elaasser, M. M. and Asiri, A. M. (2020). Synthesis of Novel Chalcone-Based Phenothiazine Derivatives as Antioxidant and Anticancer Agents. *Molecules*,25(19):4566.
- Amole, K. L., Bello I. A. and Oyewale, A. O. (2019). Synthesis, characterization and antibacterial activities of new fluorinated chalcones. *Chemistry Africa*,2:47–55.
- Berim, A. and Gang, D. R. (2015). Methoxylated flavones: Occurrence, importance, biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*,15(3):363–390.
- Burmaoglu, S., Anil, D. A., Gobek, A., Kilic, D., Yetkin, D., Duran, N. ve Algul, O. (2020). Design, synthesis and antiproliferative activity evaluation of fluorine containing chalcone derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(8), 3525-3550.
- Burmaoglu, S., Yilmaz, A. O., Polat, M. F., Kaya, R., Gulcin, İ. ve Algul, O., (2019). Synthesis and biological evaluation of novel tris-chalcones as potent carbonic anhydrase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and alpha-glycosidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*,85:191-197.
- Barber, K., Mendonca, P. and Soliman, K. F. A. (2023). The Neuroprotective Effects and Therapeutic Potential of the Chalcone Cardamonin for Alzheimer's Disease. *Brain Sciences*, 13(1):145.
- Batovska, D. I. and Todorova, I. T. (2010). Trends in utilization of the pharmacological potential of chalcones. *Current Clinical Pharmacology*,5(1):1-29.
- Constantinescu, T. and Lungu, C. N. (2021). Anticancer Activity of Natural and Synthetic Chalcones. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11306.
- Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H. and Chen, X. (2023). A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. *Molecules*,28(13):4982.
- Duran, N., Polat, M. F., Anil, A. D., Alagöz, M. A., Ay, E., Cimen, F., Tek, E., Anil, B., Burmaoglu, S. ve Algul, O. (2021). New chalcone derivatives as effective against SARS-CoV-2 agent. *International Journal of Clinical Practice*, 75:12.
- Das, M. and Manna, K. (2016). Chalcone Scaffold in Anticancer Armamentarium: A Molecular Insight. *Journal of Toxicology*,2016:7651047.
- Elkhalifa, D., Al-Hashimi, I., Al Moustafa, A. E. and Khalil, A. (2021). A comprehensive review on the antiviral activities of chalcones. *Journal of Drug Targeting*,29(4):403-419.
- Farghaly, T. A., Masaret, G. S., Muhammad, Z. A. and Harras, M. F. (2020). Discovery of thiazole-based-chalcones and 4-hetarylthiazoles as potent anticancer agents: Synthesis, docking study and anticancer activity. *Bioorganic Chemistry*, 98, 103761.
- Ford, M.C. and Ho, P.S. (2016). Computational Tools To Model Halogen Bonds in Medicinal Chemistry. *Journal of medicinal chemistry*,59(5):1655-70.

- Fu, D. J., Zhang, S. Y., Liu, Y. C., Zhang, Li., Liu, J. J., Song, J., Zhao, R. H., Li, F., Sun, H. H., Liu, H. M. and Zhang, Y. B. (2016). Design, synthesis and antiproliferative activity studies of novel dithiocarbamate–chalcone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(16),3918-22.
- Gao, F., Huang, G. and Xiao, J. (2020). Chalcone hybrids as potential anticancer agents: Current development, mechanism of action, and structure-activity relationship. *Medicinal Research Reviews*,40(5):2049-2084.
- Gomes, M. N., Muratov, E.N., Pereira, M., Peixoto, J. C., Rosseto, L. P., Cravo, P. V. L., Andrade, C. H. and Neves, B.J. (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules*,22(8):1210.
- Guazelli, C. F. S., Fattori, V., Ferraz, C. R., Borghi, S. M., Casagrande. R., Baracat, M. M. and Verri, W. A. Jr. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory effects of hesperidin methyl chalcone in experimental ulcerative colitis. *Chemico-Biological Interactions*,333:109315.
- Gupta, D. and Jain, D. K. (2015). Chalcone derivatives as potential antifungal agents: Synthesis, and antifungal activity. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*,6(3):114-7.
- Gomes, M. N., Braga, R. C., Grzelak. E. M., Neves, B. J., Muratov, E., Ma, R., Klein, L. L., Cho, S., Oliveira, G. R., Franzblau, S. G. and Andrade, C. H. (2017). QSAR driven design, synthesis and discovery of potent chalcone derivatives with antitubercular activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*,137:126-138.
- Halpani, C. and Mishra, S. (2020). Lewis Acid Catalyst System for Claisen-Schmidt Reaction under Solvent Free Condition. *Tetrahedron Letters*, 61:152175.
- Huang, Y., Liu, C., Zeng, W.C., Xu, G.Y., Wu, J.M., Li, Z.W., Huang, X.Y., Lin, R.J. and Shi, X. (2020). Isoliquiritigenin inhibits the proliferation, migration and metastasis of Hep3B cells via suppressing cyclin D1 and PI3K/AKT pathway. *Bioscience Reports*,40(1):BSR20192727.
- Hagmann, W.K. (2008). The many roles for fluorine in medicinal chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51(15):4359-69.
- Hardegger, L.A., Kuhn, B., Spinnler, B., Anselm, L., Ecabert, R., Stihle, M., Gsell, B., Thoma, R., Diez, J., Benz, J., Plancher, J. M., Hartmann, G., Banner, D. W., Haap, W. and Diederich, F. (2011). Systematic investigation of halogen bonding in protein-ligand interactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(1):314-8.
- Hardegger, L.A., Kuhn, B., Spinnler, B., Anselm, L., Ecabert, R., Stihle, M., Gsell, B., Thoma, R., Diez, J., Benz, J., Plancher, J.M., Hartmann, G., Isshiki, Y., Morikami, K., Shimma, N., Haap, W., Banner, D. W. and Diederich, F. (2011). Halogen bonding at the active sites of human cathepsin L and MEK1 kinase: efficient interactions in different environments. *ChemMedChem*,6(11):2048-54.
- Jadhav, S. Y., Bhosale, R. B., Shirame, S. P., Sonawane, D. V., Hublikar, M. G., Sonawane, K. D. and Shaikh, R. V. (2013). Synthesis and biological evaluation of fluoro-hydroxy substituted pyrazole chalcones as anti-inflammatory, antioxidant

- and antibacterial agents. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4, 309–397.
- Kar Mahapatra, D., Asati, V. and Bharti, S. K. (2019). An updated patent review of therapeutic applications of chalcone derivatives (2014-present). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*,29(5):385-406.
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A. and Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2):457.
- Katsori, A. M. and Hadjipavlou-Litina, D. (2009). Chalcones in cancer: Understanding their role in terms of QSAR. *Current Medicinal Chemistry*,16(9): 1062-81.
- Liu, M., Wilairat, P., Croft, S. L., Tan, A. L. and Go, M. L. (2003). Structure-activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*,11(13):2729-38.
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J. and Yin H. (2021). The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23):12824.
- Lu, C. F., Wang, S. H., Pang, X. J., Zhu, T., Li, H. L., Li, Q. R., Li, Q. Y., Gu, Y. F., Mu, Z. Y., Jin, M. J., Li, Y. R., Hu, Y. Y., Zhang, Y. B., Song, J. and Zhang, S. Y. (2020). Synthesis and Biological Evaluation of Amino Chalcone Derivatives as Antiproliferative Agents. *Molecules*,25(23):5530.
- Ma, D., Reichelt, M., Yoshida, K., Gershenzon, J. and Constabel, CP. (2018). Two R2R3 MYB proteins are broad repressors of flavonoid and phenylpropanoid metabolism in poplar. *The Plant Journal*,96(5):949-965.
- Mphahlele, M. J. (2021). Synthesis, Structural and Biological Properties of the Ring-A Sulfonamido Substituted Chalcones: A Review. *Molecules*,26(19):5923.
- Mahapatra, D. K., Bharti, S.K. and Asati, V. (2015). Chalcone scaffolds as anti-infective agents: structural and molecular target perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*,101:496-524.
- Nakamura, C., Kawasaki, N., Miyata, A. H., Jayachandran, E., Kim, I.H., Kirk, K.L., Taguchi, T., Takeuchi, Y., Hori, H. and Satoh, T. (2002). Synthesis and biological activities of fluorinated chalcone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*,10(3):699-706.
- Naróg, D. and Sobkowiak, A. (2023). Electrochemistry of Flavonoids. *Molecules*,28(22):7618.
- Ono, M., Ikeoka, R., Watanabe, H., Kimura, H., Fuchigami, T., Haratake, M., Saji, H. and Nakayama, M. (2010). Synthesis and evaluation of novel chalcone derivatives with (99m)Tc/Re complexes as potential probes for detection of beta-amyloid plaques. *ACS Chemical Neuroscience*,1(9): 598–607.
- Ouyang, Y., Li, J., Chen, X., Fu, X., Sun, S. and Wu, Q. (2021). Chalcone Derivates: Role in Anticancer Therapy. *Biomolecules*,11,894.
- Padhye, S., Ahmad, A., Oswal, N., Dandawate, P., Rub, R.-A., Deshpande, J. and ark. (2010). Fluorinated 20 -hydroxychalcones as garcinol analogs with enhanced

- antioxidant and anticancer activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20,5818-5821.
- Polat, M. F., Aktas, Anil D., Ozkemahli, G., Turkmenoglu, B., Hepokur, C., Burmaoglu, S. ve Algul, O. (2023). New Fluoro- and Trifluoromethyl-Substituted Trimethoxychalcones as Anticancer Agents: Synthesis, Bioevaluation, and Computational Studies. *ChemistrySelect*, 8(32).
- Padhye, S., Ahmad, A., Oswal, N. and Sarkar, F. H. (2009). Emerging role of Garcinol, the antioxidant chalcone from *Garcinia indica* Choisy and its synthetic analogs. *Journal of Hematology & Oncology*, 2:38.
- Pawlak, A., Henklewska, M., Suárez, B. H., Luzny, M., Kozłowska, E., Obmińska Mrukowicz, B. and Janeczko, T. (2020). Chalcone Methoxy Derivatives Exhibit Antiproliferative and Proapoptotic Activity on Canine Lymphoma and Leukemia Cells. *Molecules*, 25, 4362.
- Prasad, C. K. and Machiraju, P. (2017). Synthesis and Characterization of Some Novel Aryl and Heteroaryl Chalcone Derivatives of 3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-1-phenyl-1H-pyrazole-4-carbaldehyde for Assessing Their Potentials as Anticancer Agents. *Russian Journal of General Chemistry*, 87(9), 2056–2066.
- Rasool, F., Khalid, M., Yar, M., Ayub, K., Tariq, M., Hussain, A., Lateef, M., Kashif, M., Iqbal, S. (2021). Facile synthesis, DNA binding, Urease inhibition, antioxidant, molecular docking and DFT studies of 3-(3-Bromo-phenyl)-1-(2-trifluoromethyl-phenyl)-propenone and 3-(3-Bromo-5-chloro-phenyl)-1-(2-trifluoromethyl-phenyl)-propenone. *Journal of Molecular Liquids*, 336: 116302.
- Rasool, F., Hussain, A., Rizvi, T. S., Yar, M., Ayub, K., Khalid, M., Al-Harrasi, A., Lateef, M., Iqbal, S. (2023). Combined experimental and computational approach toward biological, physicochemical and quantum chemical aspects of substituted 1-[5-phenyl-3-(2-trifluoromethyl-phenyl)-4,5-dihydropyrazol-1-yl]-ethanone. *Results in Chemistry*, 5: 100772.
- Rozmer, Z. and Perjési, P. (2014). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews*, 15:87–120.
- Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., Alarousy, R. M. I. I., Attah, E. I., Sharma, T., Khairnar, S. J. and Bendale, A. R. (2021). Chalcone Scaffolds, Bioprecursors of Flavonoids: Chemistry, Bioactivities, and Pharmacokinetics. *Molecules*, 26(23):7177.
- Rizeq, B., Gupta, I., Kheraldine, H., Elkhaila, D., Al-Farsi, H. F., Moustafa, A. A. and Khalil, A. (2021). Novel Nitrogen-Based Chalcone Analogs Provoke Substantial Apoptosis in HER2-Positive Human Breast Cancer Cells via JNK and ERK1/ERK2 Signaling Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17):9621.
- Singh, P., Anand, A. and Kumar, V. (2014). Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 85:758–777.

- Sahu, N.K., Balbhadra, S. S., Choudhary, J. and Kohli, D.V. (2012). Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Current Medicinal Chemistry*, 19(2):209-25.
- Sun, R., Han, C. and Xu, J. (2022). A green synthesis approach toward large-scale production of benzalacetone via Claisen-Schmidt condensation. *RSC Advances*, 12(45):29240-29245.
- Solomon, V. R. and Lee, H. (2012). Anti-breast cancer activity of heteroaryl chalcone derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 66:213-220.
- Saito, Y., Mizokami, A., Tsurimoto, H., Izumi, K., Goto, M. and Nakagawa-Goto, K. (2018). 5'-Chloro-2,2'-dihydroxychalcone and related flavanoids as treatments for prostate cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 157:1143-1152.
- Saito, Y., Mizokami, A., Izumi, K., Naito, R., Goto, M. and Nakagawa-Goto, K. (2021). alpha-Trifluoromethyl Chalcones as Potent Anticancer Agents for Androgen Receptor-Independent Prostate Cancer. *Molecules*, 26(9):2812.
- Tohge, T., de Souza, L.P. and Fernie, A. R. (2017). Current understanding of the pathways of flavonoid biosynthesis in model and crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 68(15):4013-4028.
- Thapa, P., Upadhyay, S. P., Suo, W. Z., Singh, V., Gurung, P., Lee, E. S., Sharma, R. and Sharma, M. (2021). Chalcone and its analogs: Therapeutic and diagnostic applications in Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 108:104681.
- Tajuddeen, N., Isah, M. B., Suleiman, M. A., van Heerden, F. R. and Ibrahim, M. A. (2018). The chemotherapeutic potential of chalcones against leishmaniasis: a review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(3):311-318.
- Welday Kahssay, S., Hailu, G. S. and Taye Desta, K. (2021). Design, Synthesis, Characterization and in vivo Antidiabetic Activity Evaluation of Some Chalcone Derivatives. *Drug Design, Development and Therapy*, 15:3119-3129.
- Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126(2):485-93.
- Wang, N., Liu, W., Yu, L., Guo, Z., Chen, Z., Jiang, S., Xu, H., Fang, H., Wang, Y., Zhang, Z. and Chen, X. (2020). HEAT SHOCK FACTOR A8a Modulates Flavonoid Synthesis and Drought Tolerance. *Plant Physiology*, 184(3):1273-1290.
- Wang, L.H., Li, H.H., Li, M., Wang, S., Jiang, X.R., Li, Y., Ping, G.F., Cao, Q., Liu, X., Fang, W.H., Chen, G.L., Yang, J.Y. and Wu, C.F. (2015). SL4, a chalcone-based compound, induces apoptosis in human cancer cells by activation of the ROS/MAPK signalling pathway. *Cell Proliferation*, Dec;48(6):718-28.
- Xu, Z., Yang, Z., Liu, Y., Lu, Y., Chen, K. and Zhu, W. (2014). Halogen bond: its role beyond drug-target binding affinity for drug discovery and development. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(1):69-78.
- Yonekura-Sakakibara, K., Higashi, Y. and Nakabayashi, R. (2019). The Origin and Evolution of Plant Flavonoid Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10:943.

- Zhang, X., Abraham, C., Colquhoun, T.A. and Liu, C. J. (2017). A Proteolytic Regulator Controlling Chalcone Synthase Stability and Flavonoid Biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*,29(5):1157-1174.
- Zhang, E. H., Wang, R. F., Guo, S. Z. and Liu, B. (2013).An update on antitumor activity of naturally occurring chalcones. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*,(2):815621.
- Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C. and Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*,117(12):7762-7810.
- Zhang, S., Li, T., Zhang, Y., Xu, H., Li, Y., Zi, X., Yu, H., Li, J., Jin, C.Y. and Liu, H.M. (2016). A new brominated chalcone derivative suppresses the growth of gastric cancer cells in vitro and in vivo involving ROS mediated up-regulation of DR5 and 4 expression and apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*,309:77-86.

ÖZGEÇMİŞ

■■■■ yılında doğdu. 2016 senesinde Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandı. 2021 senesinde başarı ile mezun oldu. Aynı sene İstanbul’da yardımcı eczacılık yaptı. 2022 senesinde özel bir ilaç şirketinde eczacı olarak işe başladı. Halen orada formülasyon geliştirme ve Ar-Ge laboratuvaru sorumlusu olarak işini sürdürmektedir.

