

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

BİS 4-BROMOBENZEN SÜLFONAT BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE
İN SİLİKO ÇALIŞMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuğba USTA

HAZİRAN 2025

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

**BİS 4-BROMOBENZEN SÜLFONAT BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU, BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ VE
İN SİLİKO ÇALIŞMASI**

Tuğba USTA

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (Kimya)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09 / 05 / 2025

Tezin Savunma Tarihi : 13 / 06 / 2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yasemin ÜNVER

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programında hazırlanan ve FYL-2023-10954 kodu ile KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen "Bis 4-Bromobenzen-sülfonat Bileşiklerinin Sentezi Karakterizasyonu Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi ve In siliko Çalışması" başlıklı tez çalışması, KTÜ Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Organik Kimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım boyunca en başından en sonuna kadar her anımda yanımda olan bilgi ve birikimlerini benden esirgemeyen desteğini üzerimden hiç çekmeyen ve güler yüzünü hiç eksik etmeyen çok kıymetli saygıdeğer hocam Prof. Dr. Yasemin ÜNVER'e sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Deneylerim esnasında bana her konuda yardım eden bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sayın Dr. Arş. Gör. Fatih ÇELİK'e teşekkürü bir borç bilirim.

Biyolojik aktivite araştırmamızda antitümör çalışmalarında emeği geçen Doç. Dr. Ali AYDIN'a, docking çalışmalarımızda yardımcı olan Doç. Dr. Halil İbrahim GÜLER'e, antimikrobiyal çalışmalarımız için yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Kadriye İNAN BEKTAŞ'a, DFT çalışmalarımızda emeği geçen Prof. Dr. Nevin SÜLEYMANOĞLU ve Prof. Dr. Reşat USTABAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu yaşıma kadar beni her konuda ve koşulda destekleyip yanımda olan başta annem olmak üzere biricik aileme teşekkürlerimi ve minnetimi anlatabileceğim kelimelerim, ifadelerim tükeniyor. İyi ki varlar.

Tuğba USTA

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Bis 4-Bromobenzen Sülfonat Bileşiklerinin Sentezi Karakterizasyonu Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi ve In siliko çalışması" başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Yasemin ÜNVER'in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 13/06/2025

Tuğba USTA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1.GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
2.YAPILAN ÇALIŞMALAR	17
2.1. Orijinal Nitelikteki Bileşiklerin Sentezi	17
2.1.1. 4-formilfenil-4-bromobenzen sülfonat sentezi (1):	17
2.1.2. Alkil-bis 4-bromobenzen sülfonat türevlerinin sentezi 2(a-g)	18
2.2. DFT Çalışmaları	22
2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	22
2.3.1. Kanser Hücre Hatları ve Hücre Kültürü	22
2.3.2. Hücre Proliferasyon Ölçümüyle GI ₅₀ , TGI, LC ₅₀ ve IC ₅₀ Değerinin belirlenmesi	23
2.3.3. DNA Degredasyon/Bantlaşma Testi	24
2.3.4. DNA Bağlanma Testi	24
2.3.5. Hücre Migrasyon Testi	25
2.3.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	25
2.4. Moleküler Docking Çalışması	26
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	28

3.1. Bileşiklerin Spektroskopik Sonuçları.....	28
3.2. Sentez Çalışmalarına Ait Verilerin Değerlendirilmesi	31
3.3. DFT Çalışmaları.....	33
3.4. Antikanser Aktivite.....	36
3.4.1. NCI-60 Tarama Metodolojisine Göre Moleküllerin Değerlendirilmesi ...	36
3.4.2. Yeni Bileşiklerin Sitotoksik Aktivitesi.....	38
3.4.3. DNA Degradasyon Testi	39
3.4.4. Test Maddelerinin Hücre Migrasyonuna Olan Etkisi	40
3.4.5. Yeni Moleküllerin Hücre Morfolojisi Üzerindeki Etkileri.....	42
3.5. Antimikrobiyal Aktiviteler.....	43
3.6. Moleküler Docking Çalışmalar	45
4. SONUÇLAR.....	49
5. ÖNERİLER	50
6.KAYNAKLAR	51
7.EKLER	55
ÖZGEÇMİŞ	

Master Thesis

SUMMARY

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES AND IN SILICO STUDY OF BIS 4-BROMOBENZENESULFONATE COMPOUNDS

Tugba USTA

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Chemistry Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Yasemin UNVER
2025, 54 Pages, 14 Pages Appendix

In this thesis study, seven novel bis(4-bromobenzenesulfonate) derivatives [**2(a–g)**] were synthesized. For this purpose, 4-formylphenyl-4-bromobenzenesulfonate (**1**) was reacted with 1,4-diaminobutane, 1,5-diaminopentane, 1,6-diaminohexane, 1,7-diaminoheptane, 1,8-diaminooctane, 1,9-diaminononane, and 1,10-diaminodecane via solvent-free heating, yielding Schiff base-containing alkyl bis(4-bromobenzenesulfonate) compounds [**2(a–g)**]. The structures of the synthesized compounds were elucidated using FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR (APT), and mass spectrometry techniques. These compounds were tested against 9 microorganisms. Additionally, the synthesized compounds were evaluated for their cytotoxic effects on lung cancer cell lines Calu1 (ATCC, HTB-54), A549 (ATCC, CCL-185), and H1650 (ATCC, CRL-5883), as well as bone cancer cell lines SW1353 (ATCC, HTB-94), MG63 (ATCC, CRL-1427), and Saos2 (ATCC, HTB-85). Finally, *in silico* study of compound **2a** having biological activity was conducted.

Keywords: Bromobenzenesulfonate, Schiff Base, Docking Study, Antitumor-Antimicrobial Activity.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. 4-formilfenil-4-bromobenzen sülfonat sentez şeması	17
Şekil 2. Alkil-bis 4-bromobenzen sülfonat türevlerinin sentez şeması.....	18
Şekil 3. 2a ve 2b bileşiklerinin DFT/B3LYP/6-311G(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapıları.....	33
Şekil 4. 2g (2), 2b (3), 2c (4), 2e (5), 2a (6), 2f (7), ve 2d (8) moleküllerinin A549 (A), Beas2B (B), ve MG63 (C) hücre hatlarına karşı sergilediği DNA degradasyon test sonucu. Bütün hücre hatlarında kuyu (1) kontroldür.	40
Şekil 5. 2f, 2a, 2b, ve 2d moleküllerinin A549 hücre hattı migrasyonuna olan etkileri. Bar 100 µm.	41
Şekil 6. 2f, 2a, 2b, ve 2d moleküllerinin MG63 hücre hattı migrasyonuna olan etkileri. Bar 100 µm.	42
Şekil 7. 2a'nın iki farklı konsantrasyonda A549, Beas2B, Calu1 ve H1650 hücre hatlarının morfolojisi üzerindeki etkisi. DMSO hücreleri kontrol olarak ele aldı. Ölçek 50 µm'dir.	43
Şekil 8. İki farklı konsantrasyonda 2a'nın HC, MG 63, Saos2 ve SW1353 hücre hatlarının morfolojisi üzerindeki etkisi. DMSO hücreleri kontrol olarak ele aldı. Ölçek 50 µm'dir.	43
Şekil 9. 2a bileşiğinin, EGFR (1M17) bağlanma bölgesindeki temel amino asitlerle etkileşim halinde 2D ve 3D konformasyonlarındaki bağlanma pozisyonlarının gösterilmesi.....	47
Şekil 10. 2a bileşiğinin, VEGFR-1 (3HNG) bölgesindeki temel amino asitlerle etkileşim halinde 2D ve 3D konformasyonlarında ki bağlanma pozisyonlarının gösterilmesi.....	48

TABLÖLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 2(a-g) bileşiklerinin FT-IR spektral verileri (ATR, cm^{-1} , ν -).....	28
Tablo 2. 2(a-g) bileşiklerin ^1H -NMR spektral verileri (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$).....	29
Tablo 3. 2(a-g) bileşiklerin ^{13}C -NMR (APT) spektral verileri (100 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$).....	30
Tablo 4. 2(a-g) bileşiklerinin kütle spektral verileri (MS [EI] m/z)	31
Tablo 5. 2a ve 2b bileşiklerinin bazı deneysel ve hesaplanmış titreşim frekansları (cm^{-1}).....	34
Tablo 6. 2a ve 2b bileşiklerinin deneysel ve teorik, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR verileri (ppm).....	35
Tablo 7. A549, Calu1 ve H1650'ye karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*	37
Tablo 8. MG63, Saos2, ve SW1353'e karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*	37
Tablo 9. Beas2B ve HC'ye karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*	38
Tablo 10. Bileşiklerin TGI konsantrasyonlarında hücrelere karşı sergilediği % sitotoksikite değerleri*, **	39
Tablo 11. ImageR ile moleküllerin migrasyon analizleri	41
Tablo 12. 2(a-g) bileşiklerinin ve antibiyotiklerin test edilen mikroorganizmalara karşı $\mu\text{g/mL}$ cinsinden minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri.....	44
Tablo 13. 2a bileşiğinin EGFR ve VEGFR-1'e karşı docking skorlarının özeti.	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Å	: Ångström
°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
E.N.	: Erime noktası
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
IR	: Kızılötesi Spektroskopisi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
kcal	: Kilokalori
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
nM	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir birim
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
¹³ C-NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans

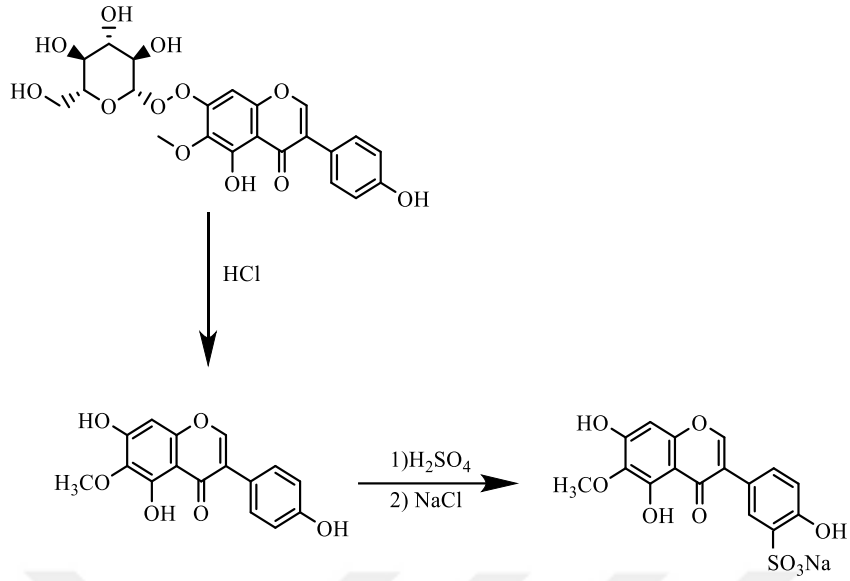
1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

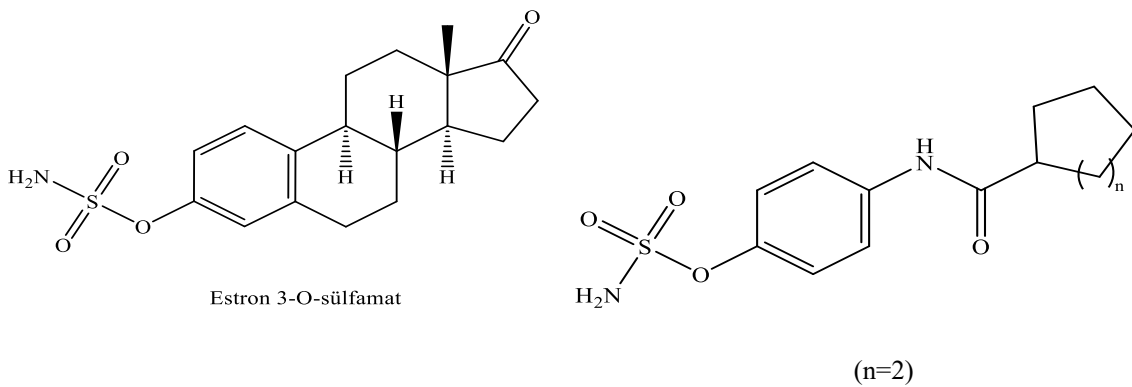
Birden fazla biyolojik anlamda etkin grupların tek bir molekülde toplandığı bileşiklere hibrit bileşikler denir. Biyolojik reaktivitesi etkili olan grupların yer aldığı bu hibrit moleküllerin tasarlanması ve sentezlenmesi daha etkin yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesi için önemlidir. İlaç moleküllerinin geliştirilmesinde ki amaç daha güçlü ve daha az yan etkiye sahip ürünler elde etmektir.

Sülfonat grupları hem biyolojik hem de endüstriyel alanlarda kayda değer biçimde etkili oldukları için son zamanlarda araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Sülfonat grubu içeren moleküllerin araştırmalarda antibakteriyal, antioksidan, antifungal ve antikanser gibi önemli biyolojik etkileri görülmektedir. Diğer yandan sülfonatlar kâğıt, elektro kaplama, yangın söndürücüler gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde de kullanılmaktadırlar.

Pueraria thunbergiana çiçeklerinden elde edilen tektoridinin hipoglisemik, östrojenik, antikanser ve antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergilediği bildirilmiştir. Bağırsak mukozası tarafından emiliminden önce tektoridini aglikon formu olan tektorijenine dönüştürür. Tektorijenin tektoridinden çok daha etkili biyolojik aktiviteler sergilemesine rağmen suda çözünürlüğü düşüktür. Kimyasal modifikasyon ile tektorijeninin sülfonasyonu sonucu hem çözünürlüğünün hem de antioksidan etkisinin oldukça arttığı bildirilmiştir (Han vd., 2012).

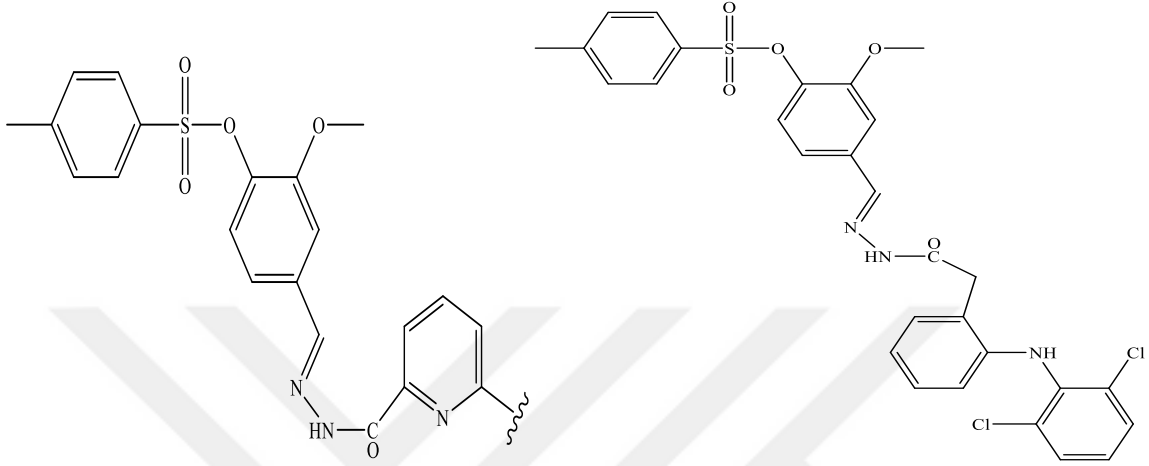


Androjen ve östrojene bağlı meme kanseri, prostat kanseri, endometriyal ve endometriozis de steroid sülfataz (STS) enzimlerinin etkisini inhibe edebilmek için birçok steroidal ve steroidal olmayan ajanlar bildirilmiştir. En güçlü steroidal STS inhibitörüne Estron 3-O-sülfamat bir örnektir ancak östrojenik yan etkileri görülmüştür. Buna karşılık sülfonat grubu içeren bir dizi arilamid türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Aşağıda gördüğümüz bileşik STS enzimi inhibisyonu açısından diğerlerine göre daha iyi ve güçlü etkinliğe sahiptir (El-Gamal vd., 2016).

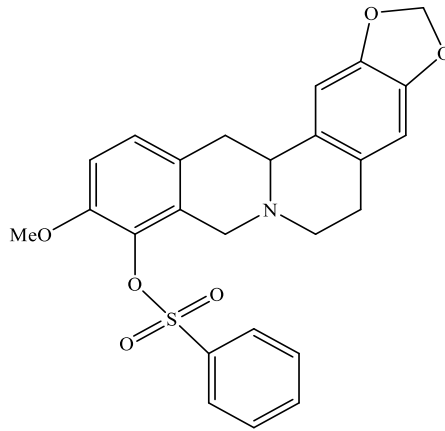


Şenkardeş ve arkadaşları (Şenkardeş vd., 2022) MCF-7(meme kanseri), PC-3(androjenden bağımsız adenokarsinomu), A549(küçük hücre dışı akciğer kanseri) gibi kanser hücrelerine karşı aril sülfonat kısmına sahip hidrazon türevleri sentezlemişlerdir. Elde

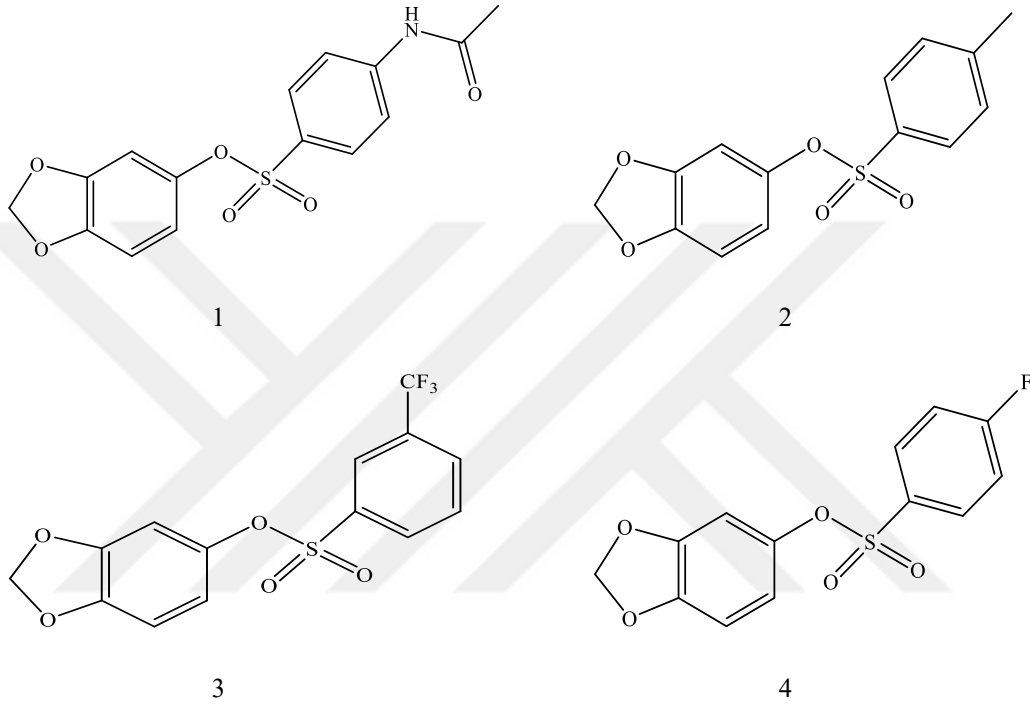
edilen bileşiklerden bazıları kanser hücrelerini oluşturan enzimlere karşı çeşitli sitotoksisite sergilemiştir. Bunlardan MCF-7 üzerinde en umut vaat edici etkiler gösteren iki bileşik aşağıda gösterilmiştir.



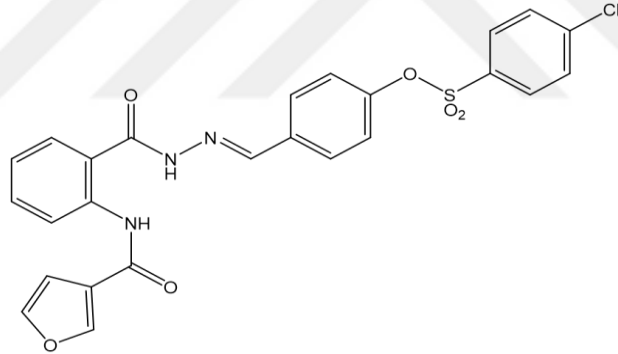
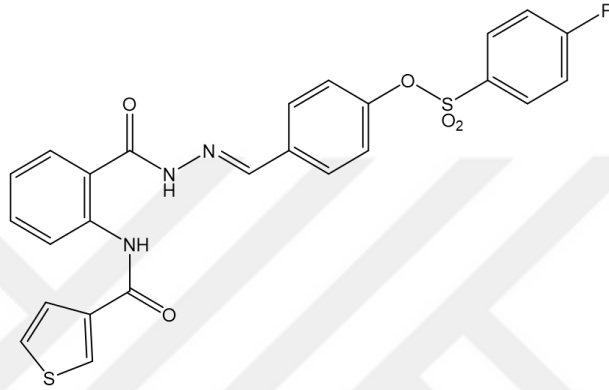
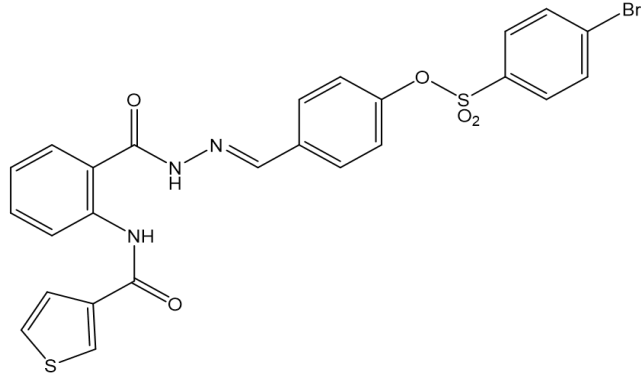
Nechepurenko ve arkadaşları (Nechepurenko vd., 2019) merkezi sinir sistemi ve hatta bazı durumlarda akciğere ve cilt lezyonlarına zarar veren *Cryptococcus neoformans* mantarına karşı berberrubine sülfonat türevleri geliştirmişlerdir. Geliştirilen bileşikler arasında *Cryptococcus neoformans* mantarına karşı yüksek antifungal aktivite gösteren yapı aşağıdaki gibidir.



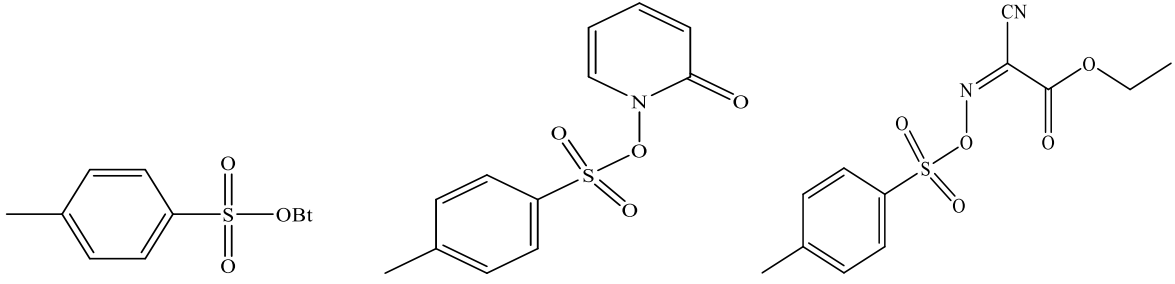
Çelik (Çelik, 2022) yapmış olduğu çalışmada sesamol ve türevleri ile sülfonat esterlerin biyolojik aktivitelerinden yola çıkarak sesamol temelli sülfonat esterlerinin karbonik anhidraz izoenzimlerine (CA) karşı inhibisyon etkileri üzerine aşağıdaki 4 bileşiği sentezlemişlerdir. Bu bileşikler içinde hem hCAI hem de hCAII için en etkili olanın 2. molekül olduğu ve bu moleküllerin farklı enzimler üzerinde de inhibitör etki gösterebileceği bildirilmiş ve literatüre kazandırılmıştır.



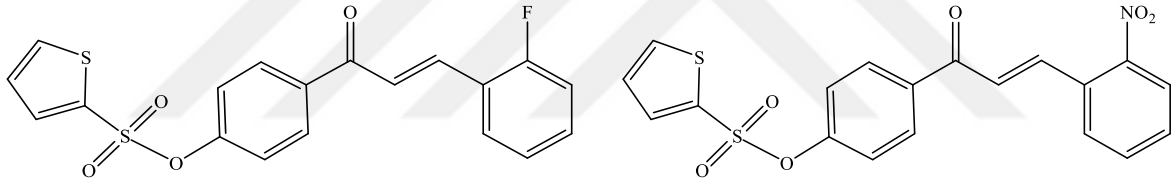
Çeşitli hastalıklara (epilepsi, mide ülseri, tip2 diyabet, nefropati, Alzheimer vb.) sebep olan AChE, BChE, hCA I–II ve α -Glu enzimlerine karşı daha baskın inhibitör etkilerin araştırılması için 18 yeni arilsülfonat grubu içeren fenamat izosterleri sentezlenmiştir. Elde edilen ürünlerden aşağıda sunmuş olduğumuz bileşikler sırasıyla hCA I–II’ya, α -Glu’ya ve AChE–BChE’ye karşı daha olumlu ve daha etkili özellikler göstererek hastalıkların tedavileri için umut vaat edici ilaç bileşenleri oldukları öne sürülmüştür. (Tokalı vd., 2023)



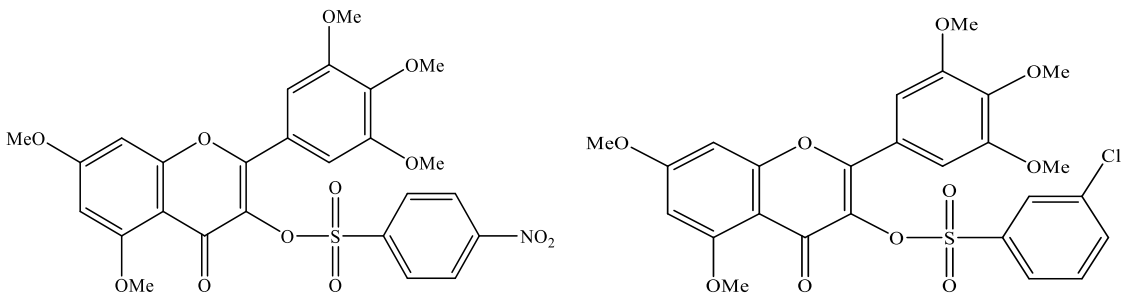
Ghazzali ve arkadaşları (Ghazzali vd., 2013) sentezledikleri sülfonat aktif ester türevlerinde seçtikleri bileşiklerden aşağıdaki ilk ikisinin SW756 (insan kolon kanseri hücre hattı) üzerinde 50 ve 25 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değerinde orta dereceli antiproliferatif etki gösterdiğini, diğer yandan üçüncü bileşiğin yüksek konsantrasyonun yanı sıra 62,5 $\mu\text{g/mL}$ ’de sivrisinek *Culex pipiens* larvalarına karşı yüksek larvasidal etki göstermiştir.



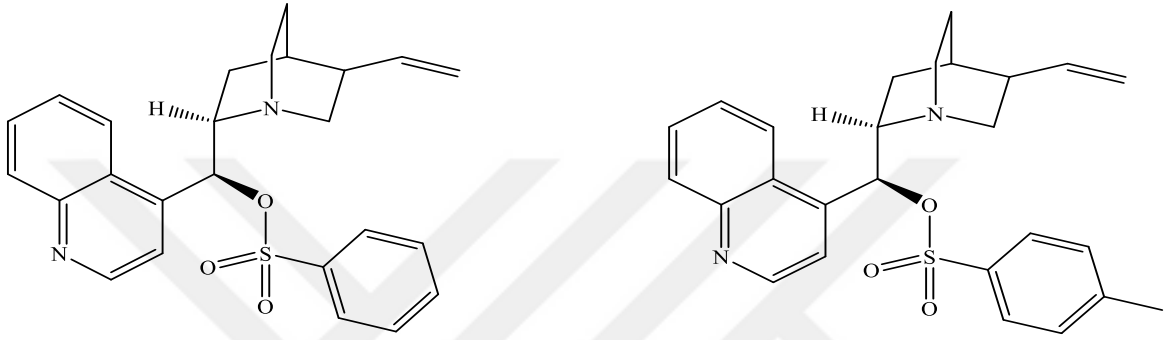
Guo ve arkadaşları (Guo vd., 2019) tarım alanında mahsüllerin bakteriyel ve virüs enfeksiyonlarına sebep olup verimi oldukça etkileyen *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Xac), *Ralstonia solanacearum* (Rs), *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) ve tütün mozaik virüsüne (TMV) karşı etkili olabilecek bir dizi tiyofen sülfonat içeren kalkon türevi tasarlayıp sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerden aldığımız aşağıdaki örnekler sırasıyla TMV ve Xac'ye karşı oldukça güçlü antibakteriyel ve iyileştirici etkileri olduğunu kanıtlamışlardır.



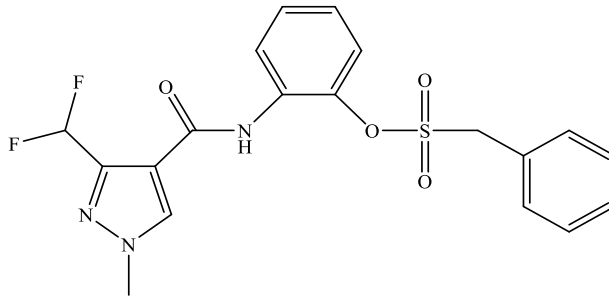
Su ve arkadaşları da (Su vd., 2021) öncesinde de bahsettiğimiz bitki hastalıklarına sebep olan bakterilere (Xac, Xoo ve Rs) karşı yüksek verim ve yeni mekanizmalara sahip antibakteriyel reaktifler geliştirmek için sülfonat grubu taşıyan mirisetin türevleri üzerine çalışmalar yürütmüşlerdir. Çalışmalarının sonucunda ilk bileşiğin Xac'ye ve diğerinin Xoo'ya karşı yeni antibakteriyel reaktifler olarak kabul edilebileceklerini öne sürmüşlerdir.



Dünyanın dört bir yanında biber üretimini ciddi ölçüde etkileyen hatta domates, kavun, salatalık vb. sebze ve meyveleri de etkileyen biber yanıklığı adı verilen hastalığa sebep olan *Phytophthora capsici* ve *Fusarium graminearum* bitki patojenlerine karşı Chen ve arkadaşları (Chen vd., 2023) kinin ve analoglarından yola çıkarak cinchona alkaloid sülfonat türevleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen 24 türev arasında aşağıda sunduğumuz ikisi çok daha güçlü anti-oomiset etki gösterdiğini ve ilerleyen zamanlarda tarım alanında ki çalışmalar için umut verici sonuçlar elde edilebileceğini kanıtlamıştır.

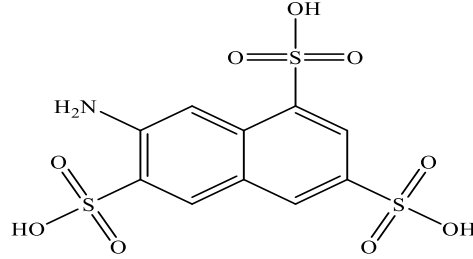


Lei ve grubu (Lei vd., 2022) pirazol türevlerinin ve sülfonat grubu içeren bileşiklerin zirai, farmasötik ve medikal etkilerinden yola çıkarak sülfonat ikameli pirazolkarbamid türevleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen 27 bileşik bitki patojeni olan *C. camelliae*, *P. theae*, *G. zaeae*, ve *R. solani*'ye karşı antifungal ve antiviral aktiviteleri açısından incelenmiştir. Aşağıda verilen bileşiğin ticari mantar ilacı olan Hymexazol ile kıyaslandığında önemli ölçüde antifungal aktiviteler sergilediği gözlenmiştir.



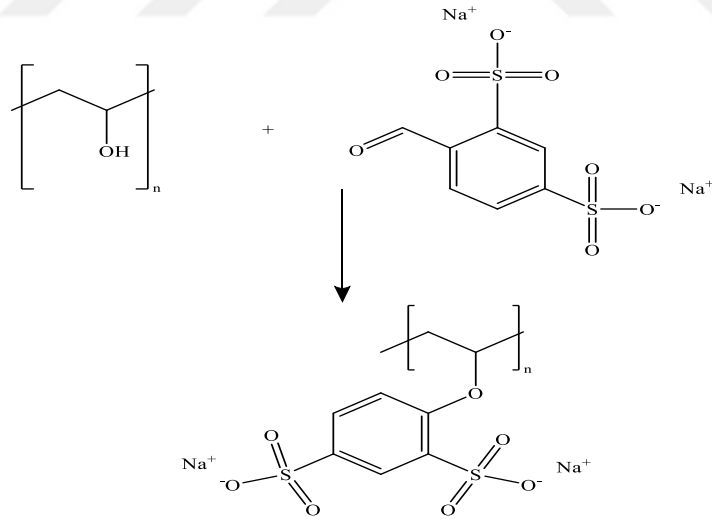
Naftalin sülfonatlar böcek ilaçları, farmasötikler, plastikleştiriciler, optik parlaticılar gibi çok çeşitli endüstriyel alanda çözücü ve dağıtıcı moleküller olarak kullanılmaktadır.

Tekstil boyası üretiminde çokça kullanılan naftilamin sülfonik asit türevi olan K-asit (2-naftilamin-3,6,8-trisülfonik asit) büyük ölçüde ekonomik öneme sahiptir. (Arslan-Alaton vd., 2010)

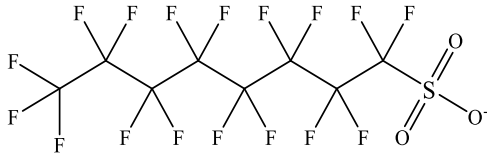


K-Asit

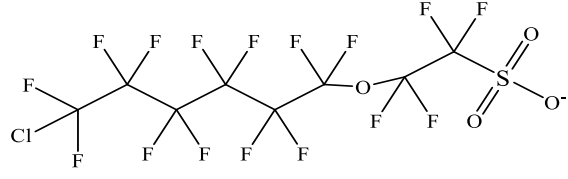
Doğada yaygın olarak bulunan bor elementinin sanayide kullanım alanları arasında ön planda olanlar cam, seramik ve deterjan endüstrisidir. Çevreye, insan ve hayvan sağlığına etkilerinden dolayı borun atık sulardan geri kazanımı çok önemlidir. Borun atık sulardan uzaklaştırılması için PVA kaplamalı sülfonat grupları içeren yüksek bor giderimli ters ozmos membranı geliştirilmiştir. (Duan vd., 2022)



Elektro kaplama endüstrisinde işlem sırasında elektrolit çözeltilerinden kaçan krom sisi hem işçi sağlığını etkilemekte hem de çevrede kirliliğe sebep olmaktadır. Krom sislerini baskılamak için per- ve polifloroalkil- maddelerinin en önemli kullanım alanıdır elektro kaplama endüstrisi. Bilinen en yaygın krom sisi baskılayıcılar perflorooktansülfonat(PFOS) ve 6:2 klorlu polifloroalkil eter sülfonattır(6:2Cl-PFAES). (Liu vd., 2022)

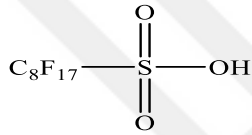


PFOS

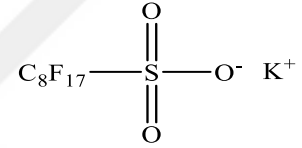


6:2 Cl-PFAES

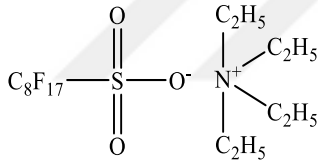
Çin’de tekstil, petrol, metal kaplama, deri, yangınla mücadele köpükleri, böcek ilaçları gibi birçok endüstri de perflorooktansülfonat(PFOS) ile ilgili kimyasallar yaygın olarak kullanılmaktadır. PFOS’nin kendisi olan PFOS-tuzları böcek ilacı, havacılık ve metal kaplama endüstrilerinde kullanılmaktadır. (Xie vd., 2013)



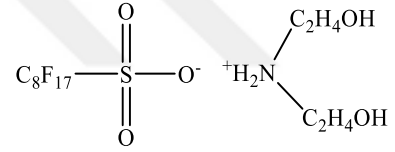
PFOS



Potasyum PFOS

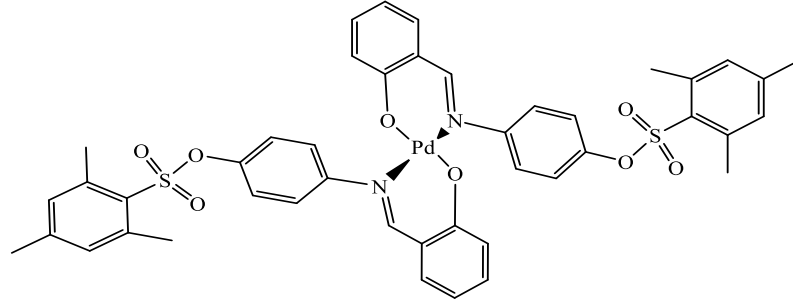


Tetraetilamonyum PFOS

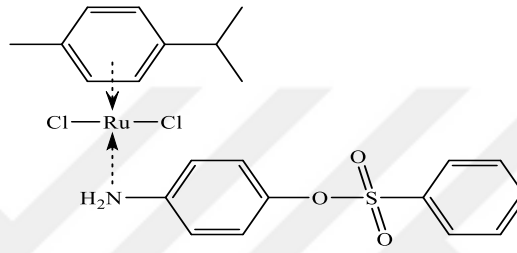


Dietanolamonyum PFOS

Kağıt (Kağıt, 2015) yapmış olduğu çalışmada aril-sülfonat kısmı içeren amin bileşiklerinin Schiff bazı ligandlarını tasarlayıp sentezlemiştir. Sentezlenen ligandların benzil alkolün benzaldehite oksidasyonundaki katalitik etkileri görebilmek için bu bileşiklerin Pd(II) ve Ru(II) kompleksleri karakterize edilmiştir. Çalışmalar sonucunda paladyum komplekslerinde K3, rutenyum komplekslerinde K4 bileşiklerinin katalitik etkisinin çok daha iyi olduğunu gözlemlemiştir.

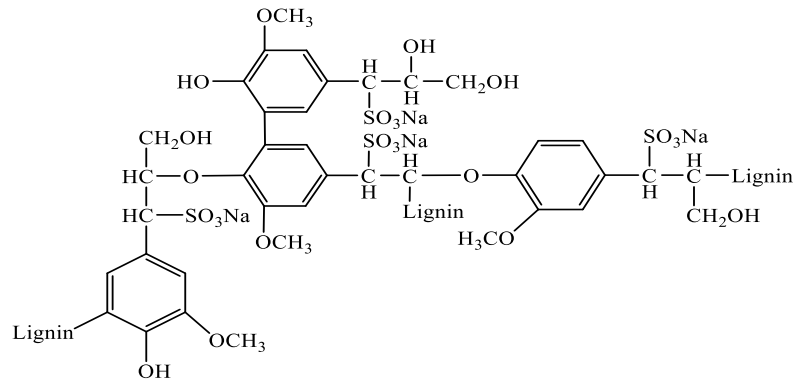


K3

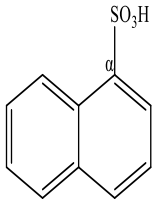


K4

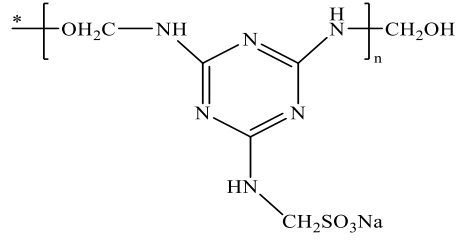
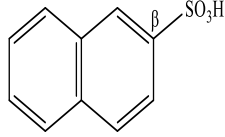
Betonların mukavemetinin artırılması, işlenebilirliğinin kolaylaştırılması betona eklenen akışkanlaştırıcı katkı maddeleriyle elde edilmektedir. Akışkanlaştırıcılar lignosülfonat, melamin sülfonat, naftalin sülfonat veya polikarboksilat içerirler. Lignosülfonatlar su azaltıcı olarak ilk kullanılan katkılardır. Naftalin sülfonatlar betonun donmaya karşı direncini arttırmaktadır. Melamin sülfonatlar kokusuz ve renksiz olmasının yanı sıra termal kararlılığı iyi olması sebebi ile kullanılmaktadır. (Algan, 2019)



Lignin Sülfonat Yapısı



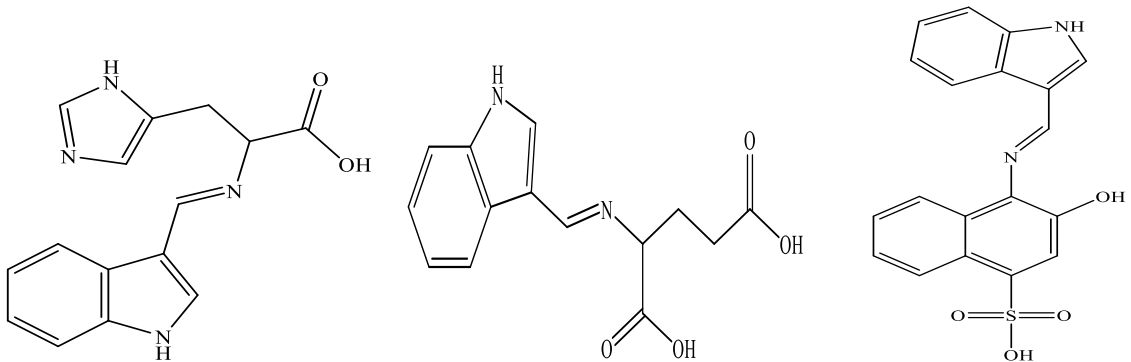
Naftalin Sulfonat Yapısı



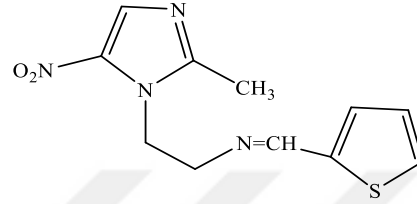
Melamin Sulfonat Yapısı

Birincil amin ve karbonil bileşiklerinin (aldehit ve ketonlar) reaksiyonundan elde edilen $-CH=N-$ grubu (azometin) içeren bileşikler Schiff bazları olarak adlandırılır. Bu bileşikler tıp da antimikrobiyal, antifungal, anti giardial, antioksidatif ve antikanser olmak üzere birçok olumlu etkilere sahiptir. Ayrıca Schiff bazları neredeyse bütün metallerle bağlanarak kompleksler oluşturabilir ve biyolojik aktivitelerinin etkilerini daha fazla arttırabilirler.

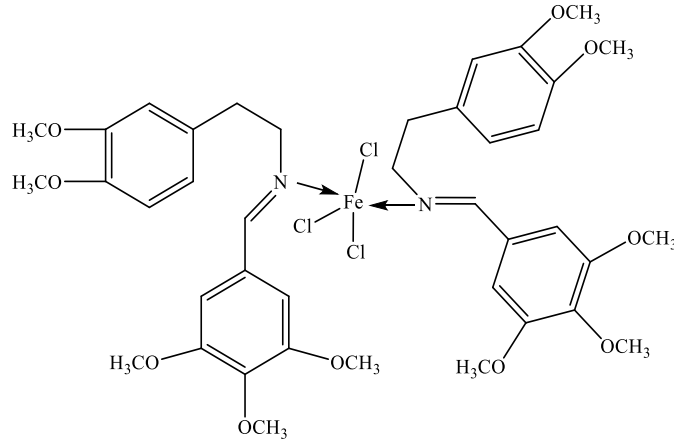
Sinha ve arkadaşları (Sinha vd., 2008) Schiff bazı ve indol türevlerinin göstermiş oldukları biyolojik aktivitelere dayanarak indol-3-karboksaldehitin Schiff baz türevlerini tasarlayıp sentezlemişlerdir. Aşağıda gösterdiğimiz ilk iki bileşik *Pseudomonas fluorescence* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı çok iyi mikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca naftalin türevi olan ve diğer bileşiklere göre daha yüksek aromatikliğe sahip üçüncü bileşik de *P. fluorescence* ve *S. aureus*'a karşı iyi antimikrobiyal aktivite sergilemiştir.



Saadeh ve arkadaşları (Saadeh vd., 2012) bir dizi metronidazol türevi sentezlemiş ve bunların anaerobik bakteri ve protozoa enfeksiyonlarına karşı biyolojik aktivitelerini araştırmışlardır. Sentezlenen bileşiklerden aşağıda sunmuş olduğumuz bileşik *Giardia intestinalis*'e karşı referans ilaç metronidazolden çok daha yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

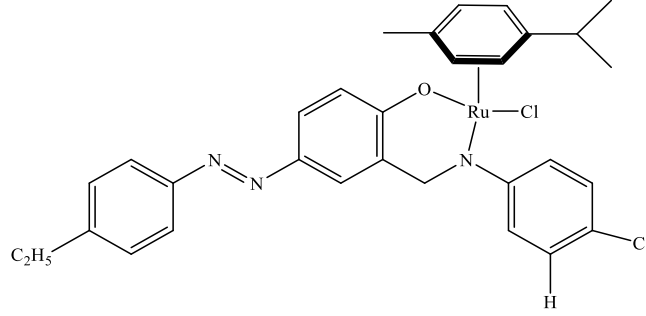


Naureen ve arkadaşları (Naureen vd., 2021) sentezledikleri Schiff baz liganları(L1 ve L2) ve bunların demir(III) ve çinko(II) komplekslerini sentezlemiş ve biyolojik aktiviteleri üzerine çalışmalar yapmışlardır. Metal iyon komplekslerinden L2'nin demir(III) kompleksi hem *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* bakterilerine karşı umut vaat eden antibakteriyel aktiviteler hem de *Candida albican*'a karşı çok iyi antifungal aktiviteler sergilemiştir.

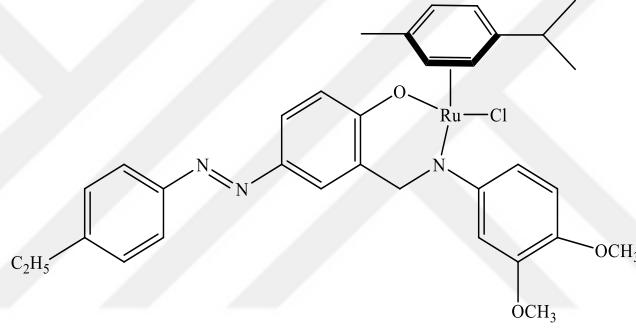


Inan ve arkadaşları (Inan vd., 2023) Schiff bazlarının katalitik etkilerini araştırmak için bir dizi azo grubu içeren Schiff bazının rutenyum(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. Kompleks 10 sentezlenen kompleksler içinde D-glikozdan D-sorbitol hidrojenasyonunda en

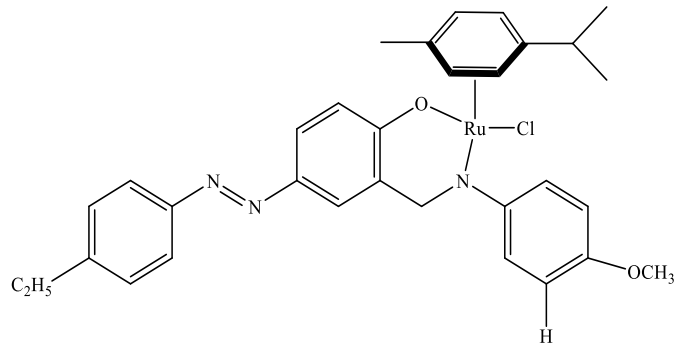
iyi katalitik aktiviteyi gösteren bileşik olmuştur. Ayrıca bazı Ru(II) komplekslerinin (8,9) *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkiler gösterdikleri de bildirilmiştir.



Kompleks 10



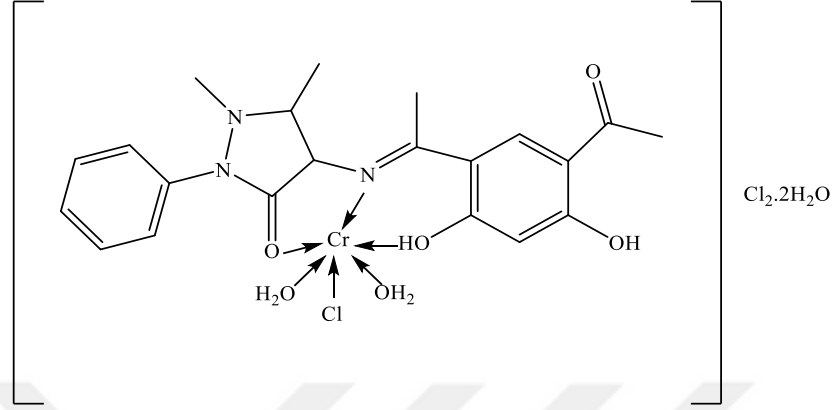
Kompleks 9



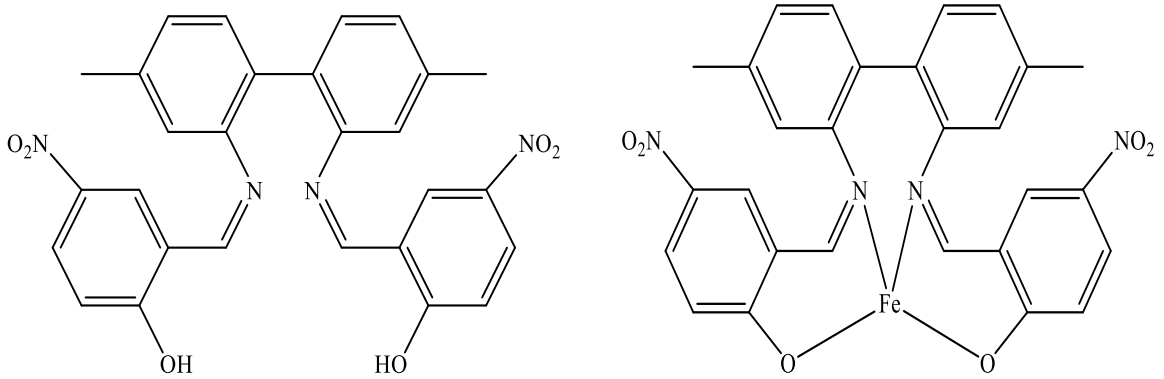
Kompleks 8

Mohamed ve arkadaşları (Mohamed vd., 2021) yeni tridentat Schiff bazından yola çıkarak (H2L; son koronavirüs çalışmalarından biri) metal komplekslerini sentezlemişlerdir. Komplekslerin anti-meme kanseri etkilerinin yanı sıra antimikrobiyal aktiviteleri de

araştırılmıştır. Sentezlenen Schiff bazı ligandının Cu(III) kompleksi serbest liganddan daha düşük bağlanma enerjisine sahiptir ve bu da güçlü antiviral etkiler göstereceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda ilerleyen koronavirüs çalışmaları içinde ışıktır.

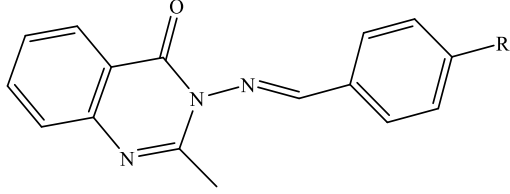


Dört yeni ve simetrik Schiff bazı ve bunların Cu(II), Fe(II) ve Zn(II) kompleksleri sentezlenmiş ve elde edilen bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden aşağıda sunmuş olduğumuz bileşik ve onun demir kompleksi *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken demir kompleksi ayrıca MCF7 hücre hattına karşı da kayda değer antikanser etkiler de sergilemiştir. (Al-Shboul vd., 2022)

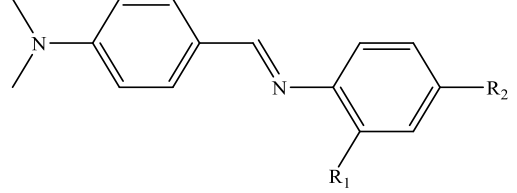


Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin sanayi, kimya ve daha birçok alanda karşı karşıya kaldığı ve düzeltilebilmesi için çok fazla maliyete sebep olan korozyon sorununun önlenmesi için heterosiklik ve organik Schiff bazları üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda yapılan derleme ile korozyon etkisini azaltmada ve önlemede

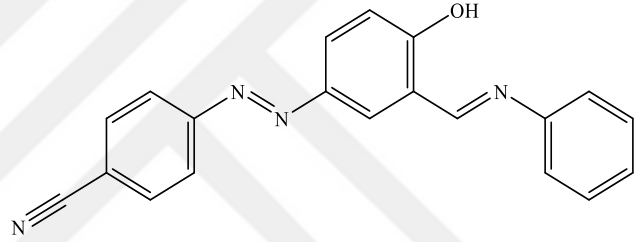
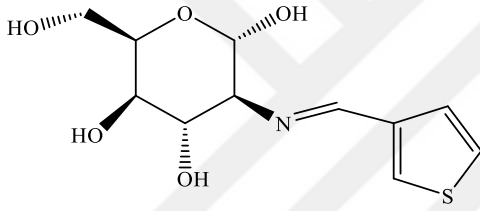
Schiff bazlarının özellikle de elektron verici gruplara (-OH, -NH₂, veya -NMe₂ ve -SH gibi) sahip olan bileşiklerin daha etkili olduklarını gözler önüne serilmiştir. (Verma & Quraiski, 2021)



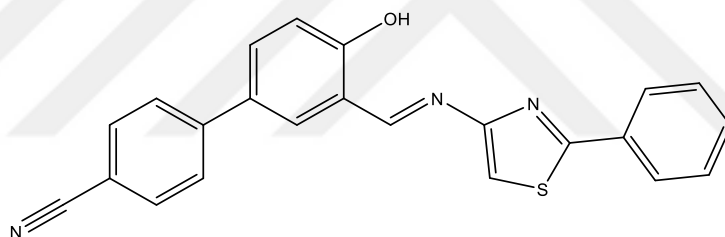
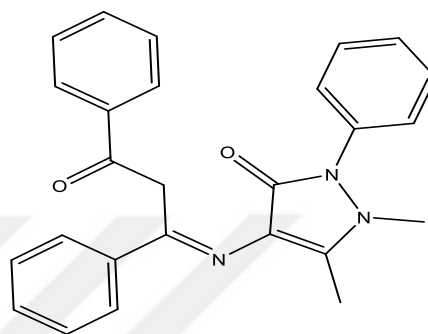
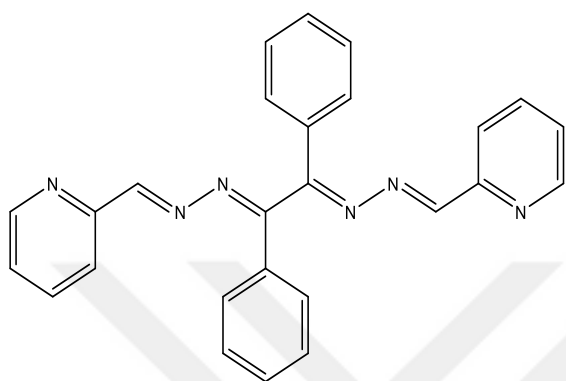
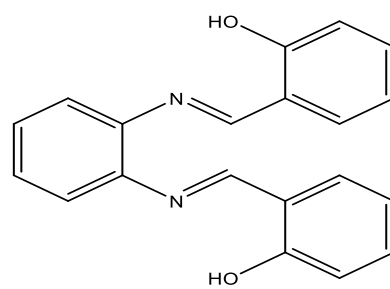
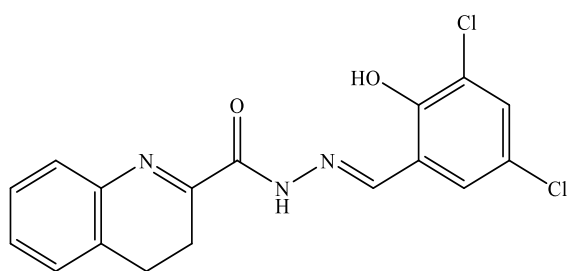
BZ3: R: -OH
BZ4: R: -NMe₂



SB1: R₁: -H, R₂: -OMe;
SB2: R₁: -H, R₂: -Me;
SB3: R₁=R₂: -NO₂



Çevresel ve biyolojik ortamlarda bulunan kirletici maddelerin (toksinler veya metal iyonları) belirlenmesi ve tanımlaması hem insan sağlığına hem de çevreye verdiği zararlardan dolayı büyük öneme sahiptir. Metal iyonlarının tespiti için çeşitli spektroskopik yöntemler (alev atomik absorpsiyon spektroskopisi, X-ışını floresan spektroskopisi vb.) kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler hem maliyetli hem de numune hazırlamada zahmetli olduğu için bunlara ek alternatif yöntem arayışları günümüzde devam etmektedir. Yapılan derleme çalışmasında katyon ve anyonların belirlenmesinde kullanılan optik sensörlerde Schiff bazlarının önemi ve etkileri bizlere sunulmuştur. (Berhanu vd., 2019)



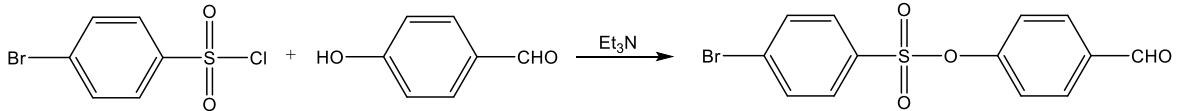
2.YAPILAN ÇALIŞMALAR

NMR ölçümleri, DMSO- d_6 çözücüsü ortamında, Bruker marka 400 MHz'lik cihazda gerçekleştirilmiş olup hem 1H hem de ^{13}C çekirdeklerine ait spektrumlar kaydedildi. IR analizleri, 4000–400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında çalışan Perkin Elmer FT-IR 1600 model cihazla yapıldı. Kütle spektrometrik veriler, Thermo Surveyor TSQ Quantum Access model LC/MS (ESI) sistemi kullanılarak elde edildi. Deneylerde kullanılan tüm çözücüler ve kimyasal maddeler Merck, Fluka ve Aldrich firmalarından tedarik edildi; çözücüler deney öncesinde uygun yöntemlerle saflaştırılıp kurutuldu.

2.1. Oriijinal Nitelikteki Bileşiklerin Sentezi

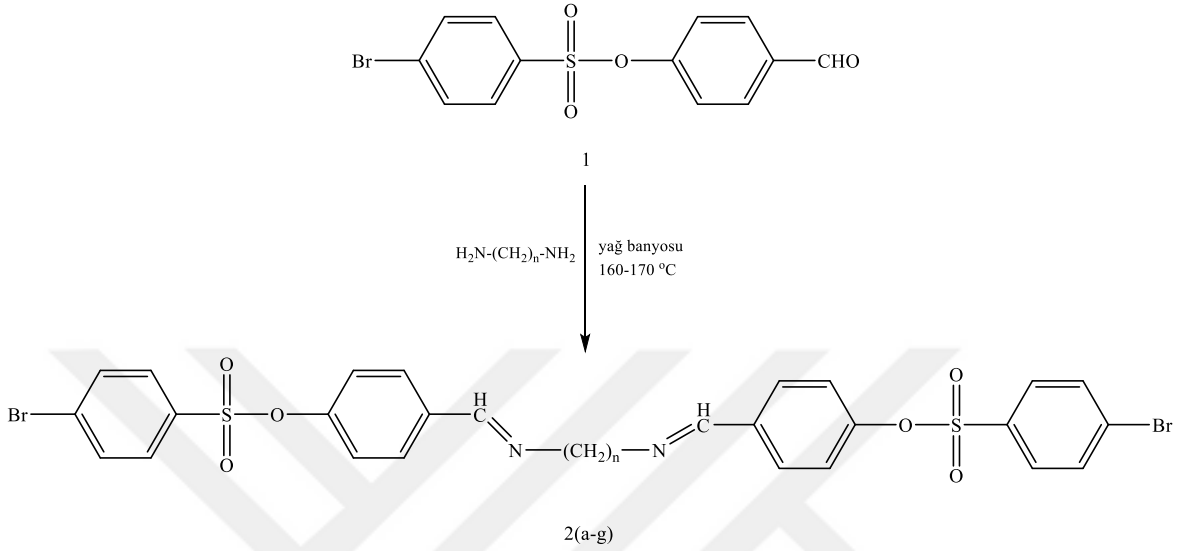
2.1.1. 4-formilfenil-4-bromobenzen Sülfonat Sentezi (1)

4-hidroksibenzaldehitin (0.01 mol) 30 mL etil asetatdaki çözeltisine 4-bromobenzen Sülfonil klorür (0.01 mol) ilave edilip balon içeriği buz banyosuna yerleştirildi. Damla damla trietilamin (0.01 mol) ilave edildi. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldıktan sonra 4-6 saat geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyonun optimum şartları ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edilerek belirlendi. Tamamlanan reaksiyon kapatıldı ve soğutuldu. Balon içeriği evapore edildi, oluşan katı madde etil alkolden saflaştırıldı. Sentezlenen bileşik literatürde mevcut olup, erime noktası ve spektral veriler literatür (Tokalı vd., 2021) ile uyumludur.



Şekil 1. 4-formilfenil-4-bromobenzen sülfonat sentez şeması

2.1.2. Alkil-bis 4-bromobenzen Sülfonat Türevlerinin Sentezi 2(a-g)



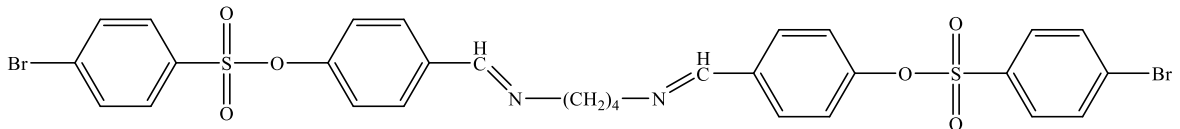
Şekil 2. Alkil-bis 4-bromobenzen sülfonat türevlerinin sentez şeması

n	4	5	6	7	8	9	10
2	a	b	c	d	e	f	g

- ((1*E*,1*E'*)-(bütan-1,4-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzenesülfonat) (2a):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzenesülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,4-diaminobütan (0.01 mol) bileşikler ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C’de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:3) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %88,45, e.n.: 133-134°C.

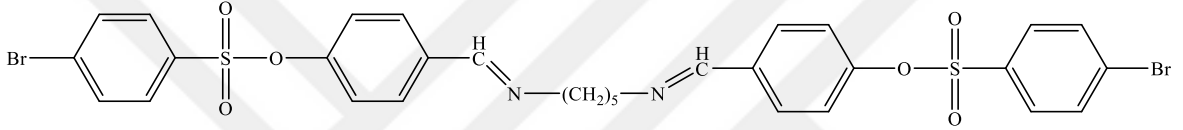
Sentezlenen **2a** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1*E'*)-(pentan-1,5-diilbis(azanililiden))bis(metanililiden))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzenesülfonat) (2b):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzenesülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,5-diaminopentan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:3) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %86,35, e.n.: yağlı bileşik.

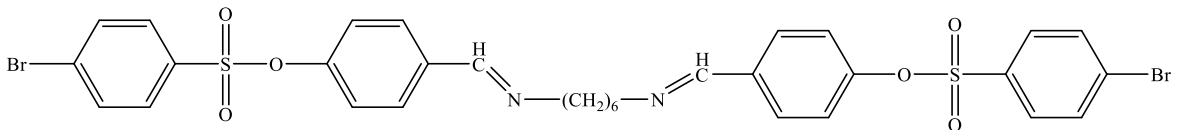
Sentezlenen **2b** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1*E'*)-(hegzan-1,6-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzenesülfonat) (2c):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzenesülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,6-diaminohegzan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:4) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %85,70, e.n.: 128-129°C.

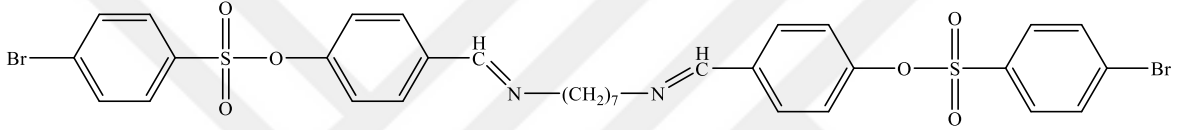
Sentezlenen **2c** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1*E'*)-(heptan-1,7-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzen-sülfonat) (2d):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzen-sülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,7-diaminoheptan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:4) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %83,86, e.n.: yağlı bileşik.

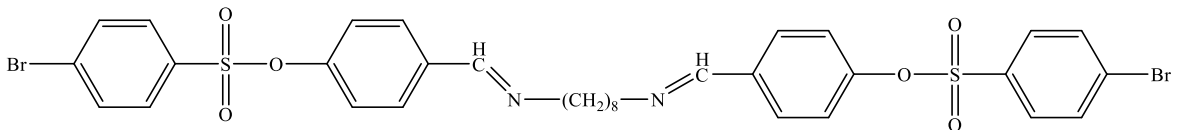
Sentezlenen **2d** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1*E'*)-(oktan-1,8-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzen-sülfonat) (2e):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzen-sülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,8-diaminoktan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:4) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %88,85, e.n.: 126-127°C.

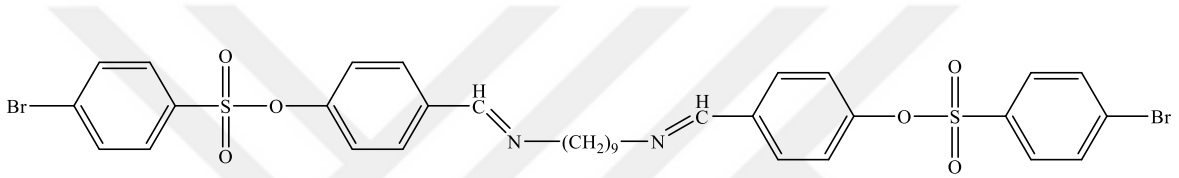
Sentezlenen **2e** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1'*E*)-(nonan-1,9-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzen-sülfonat) (2f):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzen-sülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,9-diaminnonan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:4) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %81,90, e.n.: yağlı bileşik.

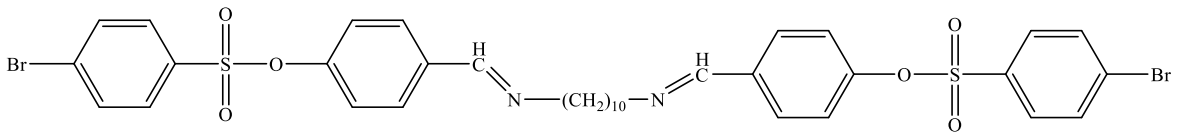
Sentezlenen **2f** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



- ((1*E*,1'*E*)-dekan-1,10-diilbis(azanililiden))bis(metanililidene))bis(4,1-fenilen)bis(4-bromobenzen-sülfonat) (2g):

Balona, 4-formilfenil-4-bromobenzen-sülfonat (1) (0.02 mol) ve 1,10-diamindekan (0.01 mol) bileşikleri ilave edildi. Reaksiyon, yağ banyosunda (İTK ile kontrol edilerek optimum şartlar belirlendi) 160-170°C'de yaklaşık 2 saat devam ettirildi. Oluşan katı ürün etil alkol-su (1:4) çözücü sistemiyle birkaç kere kristallendirme yoluyla saflaştırıldı ve liyofilizatörde kurutuldu. Verim: %90,20, e.n.: 124-125°C.

Sentezlenen **2g** numaralı bileşiğe ait açık formül aşağıda verilmiştir:



2.2. DFT Çalışmaları

2a ve **2b** bileşiklerinin DFT hesaplamaları, Gaussian 09 (Frisch vd., 2009) paket programı kullanılarak, DFT/B3LYP yöntemi ve 6-311G (d,p) (Becke, 1993; Lee vd., 2014) temel seti ile gerçekleştirildi. Hesaplamalardan elde edilen sonuçlar GaussView (Dennington vd., 2009) programı ile görselleştirildi. Gaz fazında hesaplanan anharmonik titreşim frekanslarının deneysel titreşim frekanslarıyla (Süleymanoğlu vd., 2017) uyumu, 6-311G(d,p) temel seti için 0,9679 ölçeklendirme katsayısı ile çarpılarak sağlandı. İki molekülün kimyasal kayma hesaplamaları için GIAO (Ditchfield, 1972; Wolinski vd., 1990) yaklaşımı kullanıldı. ^1H ve ^{13}C hesaplamalarından elde edilen veriler, TMS ölçeğinde sırasıyla, 31.8821 ve 182.4656 ppm değerleri (Süleymanoğlu vd., 2017) kullanılarak ölçeklendirildi.

2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

2.3.1. Kanser Hücre Hatları ve Hücre Kültürü

Bu araştırmada, akciğer kanseri hücre hatları olarak Calu1 (ATCC, HTB-54), A549 (ATCC, CCL-185) ve H1650 (ATCC, CRL-5883); kemik kanseri hücre hatları olarak ise SW1353 (ATCC, HTB-94), MG63 (ATCC, CRL-1427) ve Saos2 (ATCC, HTB-85) kullanıldı. Kontrol grubu olarak normal akciğer hücresi Beas2B (RRID, CVCL-0168) ile normal kondrosit hattı HC (Sigma Aldrich, 402-05A) tercih edildi. Tüm hücre kültürü işlemleri, steril koşullarda, laminar akış kabini içerisinde gerçekleştirildi. Hücreler, %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %2 PenStrep içeren DMEM veya RPMI 1640 ortamında, 37°C sıcaklıkta ve %5 CO_2 atmosferinde kültüre edildi. Deney düzeneklerinde, her bir kuyuya 10.000 hücre olacak şekilde ekim yapılmış; yaklaşık 16 saatlik ön inkübasyon sürecinden sonra test bileşikleri eklenmiş ve 24 saatlik inkübasyon sonrasında ölçümler alındı.

2.3.2. Hücre Proliferasyon Ölçümüyle GI₅₀, TGI, LC₅₀ ve IC₅₀ Değerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, sentezlenen yeni bileşiklerin hücre çoğalması üzerindeki etkilerini değerlendirmek ve IC₅₀ değerlerini belirlemek amacıyla MTT [3-(4,5-dimetil-tiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] testi uygulandı (Mosmann, 1983). Kanseri hücre hatları, test bileşikleriyle birlikte 24, 48 ve 72 saat boyunca 37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂ içeren inkübasyon koşullarında tutuldu. Süre sonunda MTT analizi gerçekleştirildi. Uygulamada; 5 mg/mL konsantrasyona sahip MTT stok çözeltisi, besiyeri ile 1:9 oranında seyreltilerek çalışma çözeltisi hazırlandı. Hücrelerin bulunduğu pleytlerdeki mevcut besiyeri uzaklaştırılarak yerine bu MTT çözeltisi eklenmiş ve hücreler 4 saat daha aynı koşullarda inkübe edildi. Ardından, hücre metabolizması sonucunda oluşan formazan kristallerinin absorptans ölçümleri yapıldı. Elde edilen optik yoğunluk verileri kullanılarak Excel® yazılımı aracılığıyla % inhibisyon (Formül 1), GI₅₀ (Formül 2), TGI (Formül 3) ve LC₅₀ (Formül 4) parametreleri hesaplandı.

$$\%inhibisyon = [1 - (A_{\text{test maddesi}} / A_{\text{kontrol}})] \times 100 \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{GI}_{50}: \text{Büyümeyi \%50 oranında azaltan konsantrasyon} \\ = [(T_i - T_z) / (C - T_z)] \times 100 = 50 \end{aligned} \quad (2)$$

$$\text{TGI: Büyümeyi \%100 oranında azaltan konsantrasyon} = (T_i = T_z) \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \text{LC}_{50}: \text{Ortamdaki hücreleri \%50 oranında öldüren konsantrasyon} \\ = [(T_i - T_z) / T_z] \times 100 = -50 \end{aligned} \quad (4)$$

2.3.3. DNA Degredasyon/Bantlaşma Testi

Apoptozla ilişkili DNA degradasyonu ve bantlaşma testi, apoptotik DNA'nın hücrelerden izole edilip agaroz jel üzerinde görüntülenmesi yöntemiyle gerçekleştirildi (Gong, 1994). Bunun için bir T25 şişesinde, confluent hale gelen hücrelere DMSO ile çözündürülmüş test bileşenleri ve pozitif kontrol maddesi, IC₅₀ konsantrasyonunda eklenerek 24 saat süreyle inkübe edildi. Sonrasında, hücreler flastan kazıyıcıyla alınıp DPBS ile yıkanmış ve 15 mL'lik falonlara aktarıldı. Bu örneklerle, -20°C'de 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutulacak şekilde 5 mL %70 alkol eklendi. Alkol döküldükten sonra örnekler kurutulmuş ve üzerine fosfat-sitrat tamponu eklenerek 30 dakika, 37°C'de bekletildi. Bu sürenin sonunda falonlar santrifüj edilerek örnekler ependorf tüplerine alınmış, 5 µL Tween20 ve 5 µL RNaz ilave edilerek 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra örneklerle, 5 µL proteinaz K ve 5 µL %5'lik SDS eklenmiş ve 30 dakika, 37°C'de inkübe edildi. DNA, etidyum bromid içeren %2,5'lik agaroz jel ile analiz edildi. Örnekler, pozitif kontrol ile birlikte loading buffer eklenerek jel üzerine yüklenmiş ve marker ile birlikte jelde elektroforez işlemi yapıldı. DNA'nın degradasyonu ve bantlaşma durumu, jel görüntüleme sistemi kullanılarak incelendi.

2.3.4. DNA Bağlanma Testi

DNA bağlanma deneyi için UV/Vis-absorbsiyon metodu kullanıldı. UV/Vis-absorbsiyon spektrumundan elde edilen sonuçlardan aşağıdaki Benesi-Hildebrand eşitliği (Formül 5) gereğince her bir DNA konsantrasyonuna ($1/[DNA]$) karşılık ($A_0/(A-A_0)$) değerleri grafiğe aktarıldı. Grafikten elde edilen doğrunun kesim noktası Kb'yi verir. Bu eşitlikte A_0 , serbest haldeki bileşiğin absorbansını, A , tam bağlı bileşiğin absorbansını, ϵ_L , serbest haldeki bileşiğin molar absorpsiyon katsayısını, ϵ_C , bağlı bileşiğin molar absorpsiyon katsayısını ifade eder. Ayrıca Wolfe-Shimmer eşitliği (Formül 6) kullanılarak $[DNA]/(|\epsilon_A - \epsilon_F|)$ karşılık $[DNA]$ grafiği çizildi. Absorbans şiddetindeki değişim (%H) ise yüzde oranlarıyla verilir ve aşağıdaki eşitlik (Formül 7) kullanıldı. Bu eşitlikte ise A_i , DNA eklenmeden önce bileşiğin absorbans şiddetini ifade ederken, A_s ise maksimum konsantrasyonda DNA ilave edildikten sonra bileşiğin absorbans şiddetini gösterir (Lakowicz & Weber, 1973; Wolfe vd., 1987).

$$\begin{aligned} &\text{Benesi-Hildebrand eşitliği:} \\ &=A_0/(A-A_0) = \epsilon_I/(\epsilon_C-\epsilon_I) + \epsilon_I/(\epsilon_C-\epsilon_I) \times 1/K[\text{DNA}] \end{aligned} \quad (5)$$

$$\begin{aligned} &\text{Wolfe-Shimmer eşitliği:} \\ &=[\text{DNA}]/(|\epsilon_A-\epsilon_F|) = [\text{DNA}]/(|\epsilon_B-\epsilon_F|) + 1/Kb(|\epsilon_B-\epsilon_F|) \end{aligned} \quad (6)$$

$$\%H = [(A_i - A_s) / (A_i)] \times 100 \quad (7)$$

2.3.5. Hücre Migrasyon Testi

Akciğer ve kemik kanseri hücrelerinin migrasyon yetenekleri üzerindeki test bileşiklerinin etkisini değerdendirmek amacıyla yara iyileşme testi (wound healing assay) uygulandı. Bu yöntem, hücrelerin test maddesi içeren ortamda çoğalma ve göç etme kapasitelerinin izlenmesine dayanmaktadır. Deneyde, iki odacıklı silikon tabanlı kültür kabı (μ -Dish) kullanıldı; bu sistemdeki bölmeler arasında 500 μm 'lik bir boşluk bulunmaktadır. Her bir bölmeye 35.000 hücre / 70 μL olacak şekilde hücre süspansiyonu eklenmiş ve hücrelerin yapışması için 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından silikon ara parça, steril forsepe yardımıyla dikkatlice çıkarılmış, mevcut besi ortamı uzaklaştırılmış ve yerine yaklaşık 2 mL taze besiyeri ilave edildi. Ardından test bileşikleri, hücrelerin GI_{50} konsantrasyonunda ortama eklendi. Bu noktadan itibaren hücre göçünün izlenebilmesi için örneklerin mikroskopik görüntülemeleri başlatıldı. Kontrol grubu olarak kullanılan μ -Dish'teki 500 μm 'lik boşluk tamamen kapanana dek, deney gruplarındaki hücre alanları 6 saat aralıklarla fotoğraflandı.

2.3.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Çalışmada sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal etkileri, bazı hastalıklarla ilişkilendirilen toplam dokuz patojen mikroorganizma üzerinde test edildi. Bu amaçla; dört Gram-negatif bakteri türü (*Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17853), dört Gram-pozitif bakteri türü (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10876 ve *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) ile bir maya türü olan *Candida albicans* (ATCC 10231) kullanıldı. Antimikrobiyal testlerde kullanılan tüm mikroorganizma suşları, Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (ATCC) kaynaklıdır.

Sentezlenen bileşiklerin minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) değerleri mikrogram cinsinden mililitre başına ($\mu\text{g/mL}$) ifade edilerek, mikrotitre broth seyreltme yöntemi ve hızlı INT renk ölçüm testi ile belirlendi. Analiz, 2012 yılında Kuete ve arkadaşları tarafından belirtilen Klinik ve Labarotuvur Standartları Enstitüsü (CLSI) yönergelerine uygun olarak gerçekleştirildi (Kuete vd., 2012). Sentezlenen tüm bileşiklerin stok çözeltileri dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözülerek hazırlandı. Ardından, bu stok konsantrasyonları Mueller-Hinton Broth (MHB) kullanılarak 96 kuyucuklu mikro plaklarda seri olarak üretildi. Bakteri süspansiyonları, 5×10^5 koloni oluşturan birim (CFU) olacak şekilde hazırlandı ve her kuyucuğa inoküle edildi. Mikro plaklar daha sonra 37°C 'de 24 saat boyunca inkübe edildi. 37°C 'de ki inkübasyon süresinin ardından mikrobiyal büyümenin göstergesi olarak 0.2 mg/mL p-iyodonitrotetrazolyum klorür (INT) solüsyonundan 40 μL her kuyucuğa eklendi. Mikro plaklar, MIC değerlerinin görsel olarak belirlendiği 37°C 'de 30 dakika daha inkübe edildi. MIC değeri, test mikroorganizmasının büyümesinin tamamen inhibe olduğu en düşük konsantrasyon olarak tanımlandı, bu da pembe rengin oluşmadığı kuyucuk olarak değerlendirildi. MIC değerlerinin belirlenmesi üç kez tekrarlandı, en az iki kez tekrarlayan bir değer nihai MIC olarak kabul edildi. Referans olarak, standart ticari ilaçlar ampicilin (10 mg/mL) ve flukonazol (2 mg/mL) sırasıyla bakteri ve maya için kullanıldı. Çözücünün herhangi bir inhibe edici etkisini hesaba katmak için yalnızca DMSO kullanılarak negatif kontrollü bir deney gerçekleştirildi.

2.4. Moleküler Docking Çalışması

Literatürde farklı avantaj ve sınırlamalara sahip çeşitli moleküler docking yazılımları mevcuttur. Elde edilen sonuçların doğruluğu büyük ölçüde protein ve küçük molekül yapılarının kalitesine, ayrıca docking hesaplamalarında kullanılan özel parametreler ve algoritmalara bağlıdır (Süleymanoğlu vd., 2017; Ditchfield, 1972). Bu çalışmada, ligand-protein etkileşimlerini incelemek ve kanser karşıtı mekanizmalar ile inhibisyon mekanizmalarını ortaya çıkarmak için moleküler docking çalışmaları gerçekleştirildi. Çalışmaların odak noktası, **2a** bileşiği oldu.

Docking analizlerinde kullanılan proteinlerin (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR) (Çözünürlük: 2.60 Å, PDB ID: 1M17) ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptörü 1 (VEGFR1) (Çözünürlük: 2.70 Å, PDB ID: 3HNG)) 3B kristal yapıları Protein

Data Bank'tan (PDB) elde edildi. İlk aşamada, indirilen kompleks yapılardan su molekülleri, iyonlar ve diğer ligandlar BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2017) yazılımı kullanılarak temizlendi. Ardından reseptör proteinlere polar hidrojen atomları ve Kollman yükleri MGL Tools programı aracılığıyla eklendi. Ligand-protein etkileşimlerini belirlemek için AutoDock 4.2 yazılımı (Morris vd., 2009) kullanıldı. **2a** bileşiği ChemDraw yazılımı ile çizildi, referans ilaçlar ise PubChem veritabanından sdf formatında indirildi. Bu bileşikler daha sonra Avogadro yazılımındaki UFF kuvvet alanı kullanılarak optimize edildi (Hanwell vd., 2012). Tüm ligandlar MGL Tools'a aktarıldı ve pdbqt dosyalarına dönüştürüldü. Docking işlemi sırasında reseptör moleküller rijit (sabit) tutulurken, ligandların esnekliği korundu. Docking işlemi hızlandırmak amacıyla, reseptör molekülünün aktif bölgesini kapsayan bir grid oluşturuldu. Grid, x, y ve z yönlerinde 50x50x50 koordinatlarında oluşturulup, grid aralığı 0.4 Å olarak belirlendi. Docking çalışmaları, AutoDock 4.2 yazılımına entegre edilen Lamarckian genetik algoritma yöntemi ile gerçekleştirildi. Çalışmalarda 150 bireyden oluşan bir popülasyon, maksimum 2.500.000 enerji değerlendirmesi ve maksimum 54.000 jenerasyon kullanıldı. Docking sonuç dosyaları AutoDock 4.2 yazılımı ile oluşturuldu. Ardından docking sonucunda elde edilen yapıların bağlanma yönelimleri ve enerji hesaplamaları BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 yazılımı kullanılarak detaylı bir şekilde değerlendirilip ve görselleştirildi. En uygun pozlar, hedef proteinlere ait bağlanma skorlarına göre belirlendi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Bileşiklerin Spektroskopik Sonuçları

Çalışmamızda sentezlenen **2(a-g)** numaralı bileşiklere ait FT-IR, ¹H-NMR , ¹³C-NMR(APT) spektroskopik veri değerleri ve kütle spektral verileri Tablo 1, Tablo 2 , Tablo 3 ve Tablo 4’ de sırasıyla sunuldu.

Tablo 1. 2(a-g) bileşiklerinin FT-IR spektral verileri (ATR, cm⁻¹, ν-)

IR	=C-H	-C-H	C=N	C=C	S=O
2a	3080	2944	1644	1577	1151, 1376
2b	3089	2931	1644	1599	1148, 1373
2c	3085	2935	1645	1574	1145, 1353
2d	3093	2929	1645	1574	1148, 1375
2e	3096	2930	1643	1574	1146, 1352
2f	3093	2927	1645	1574	1148, 1376
2g	3091	2924	1648	1574	1143, 1352

Tablo 2. 2(a-g) bileşiklerin ^1H -NMR spektral verileri (400 MHz, DMSO- d_6 / δ)

^1H -NMR	$=\text{N}-\text{CH}_2-$ $(\text{CH}_2)_n$ $-\text{CH}_2-$ $\text{N}=\text{}$	$=\text{N}-\text{CH}_2-$ $(\text{CH}_2)_n$ $-\text{CH}_2-\text{N}=\text{}$	Br-benzen H	O-benzen H	$\text{N}=\text{CH}$
2a	1.65, bs, 4H	3.59, bs, 4H	7.80 (bs, 4H), 7.90 (bs, 4H)	7.13 (d, 4H, J=8 Hz), 7.74 (d, 4H, J=8 Hz)	8.33, s, 2H
2b	1.35, bs, CH_2 , 2H; 1.63, bs, 2CH_2 , 4H	3.55, bs, 4H	7.89 (bs, 4H), 7.72-7.81 (m, 4H)	7.13 (d, 4H, J=8 Hz), 7.72-7.81 (m, 4H)	8.31, s, 2H
2c	1.34, bs, 2CH_2 , 4H; 1.60, bs, 2CH_2 , 4H	3.54, t, 4H	7.90 (bs, 4H), 7.73-7.80 (m, 4H)	7.13 (d, 4H J=8 Hz), 7.73-7.80 (m, 4H)	8.31, s, 2H
2d	1.31, bs, 3CH_2 , 6H; 1.58, bs, 2CH_2 , 4H	3.54, bs, 4H	7.89 (bs, 4H), 7.76-7.81 (m, 4H)	7.14 (bs, 4H), 7.76-7.81 (m, 4H)	8.31, s, 2H
2e	1.30, bs, 4CH_2 , 8H; 1.59, bs, 2CH_2 , 4H	3.54, t, 4H	7.90 (bs, 4H), 7.74-7.81 (m, 4H)	7.13 (d, 4H J=8 Hz), 7.74-7.81 (m, 4H)	8.31, s, 2H
2f	1.26, bs, 5CH_2 , 10H; 1.56, bs, 2CH_2 , 4H	3.51, bs, 4H	7.78-7.88 (m, 8H)	7.13 (bs, 4H), 7.78-7.88 (m, 4H)	8.30, s, 2H
2g	1.27, bs, 6CH_2 , 12H; 1.57, bs, 2CH_2 , 4H	3.50, t, 4H	7.90 (bs, 4H), 7.74-7.80 (m, 4H)	7.13 (d, 4H J=8 Hz), 7.74-7.80 (m, 4H)	8.31, s, 2H

Tablo 3. 2(a-g) bileşiklerin ^{13}C -NMR (APT) spektral verileri (100 MHz, DMSO- d_6 / δ)

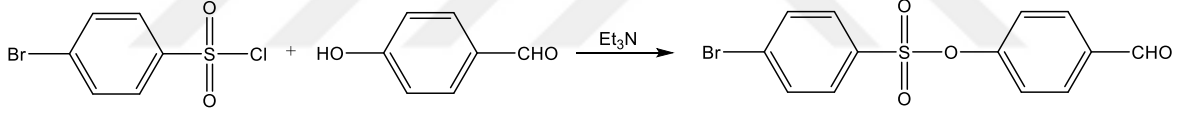
^{13}C -NMR (APT)	$=\text{N}-\text{CH}_2-$ $(\underline{\text{CH}}_2)\text{n}-$ $\text{CH}_2-\text{N}=\text{}$	$=\text{N}-\underline{\text{CH}}_2-$ $(\text{CH}_2)\text{n}-$ $\underline{\text{CH}}_2-\text{N}=\text{}$	Br-benzen C	O-benzen C	N=CH
2a	28.68	60.68	128.86 (C), 129.92 (CH), 133.49 (CH), 135.77 (C)	122.90 (CH), 130.57 (CH), 133.71 (C), 150.66 (C)	159.72
2b	24.73, 30.47	60.80	129.88 (C), 130.62 (CH), 133.81 (CH), 135.84 (C)	122.86 (CH), 133.48(CH), 150.58 (C)	159.64
2c	26.76, 30.46	60.59	129.89 (C), 130.64 (CH), 133.49 (CH), 135.87 (C)	122.89 (CH), 133.49 (CH), 150.19 (C)	159.65
2d	27.20, 29.09, 30.81	60.90	129.90 (C), 130.63 (CH), 133.80 (CH), 135.86 (C)	122.87 (CH), 133.48 (CH), 150.48 (C)	159.67
2e	27.20, 29.23, 30.82	61.18	129.90 (C), 130.64 (CH), 133.80 (CH), 135.96 (C)	122.89 (CH), 133.49 (CH), 150.58 (C)	159.57
2f	27.20, 29.24, 29.41, 30.83	59.93	129.89 (C), 130.63 (CH), 133.82 (CH), 135.87 (C)	122.86 (CH), 133.47 (CH), 150.49 (C)	159.37
2g	27.13, 29.18, 29.33, 30.71	60.91	129.77 (C), 130.72 (CH), 133.80 (CH), 135.83 (C)	122.78 (CH), 133.49 (CH), 150.49 (C)	159.36

Tablo 4. 2(a-g) bileşiklerinin kütle spektral verileri (MS [EI] m/z)

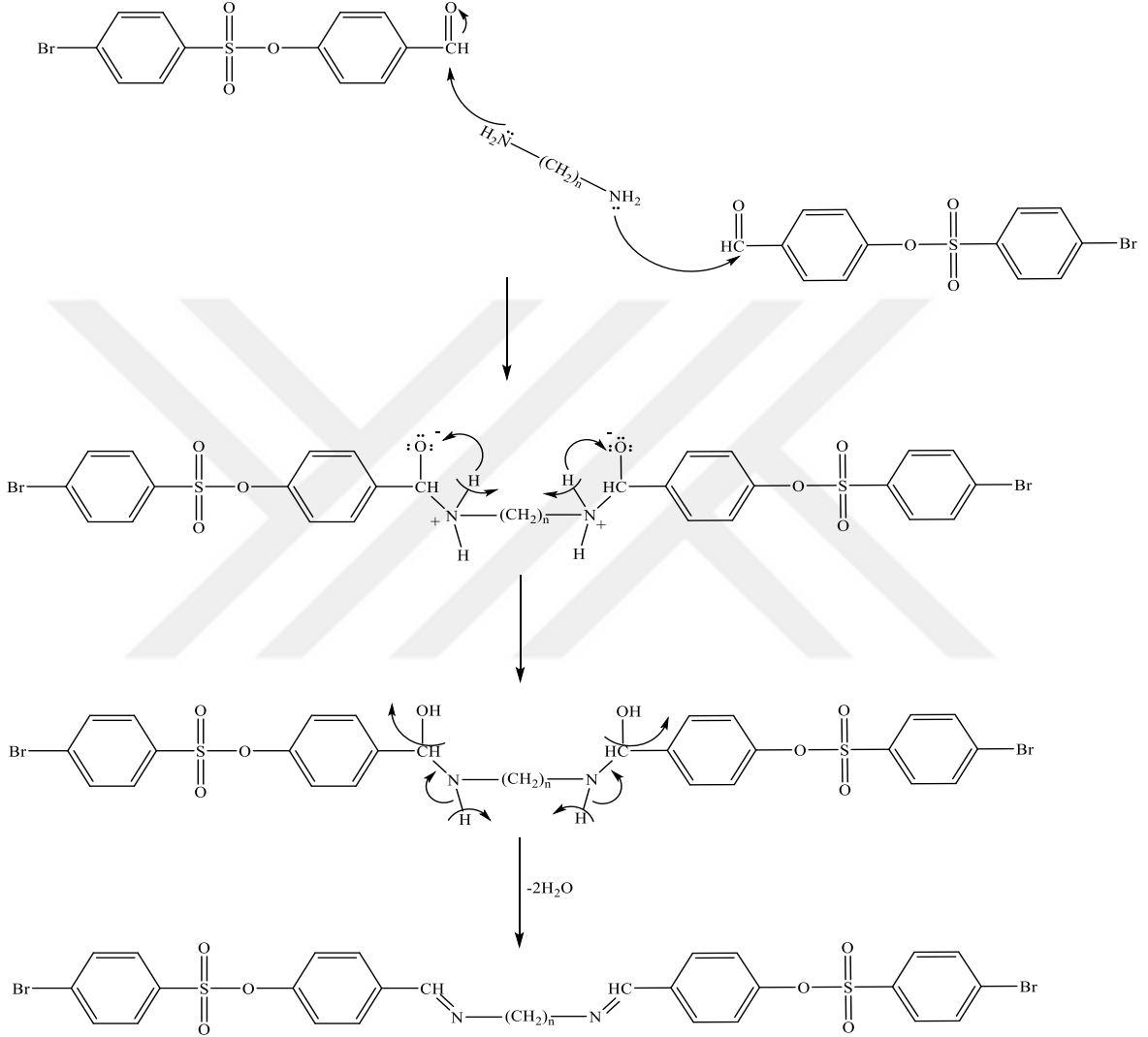
Bileşik	Kütle Spektrum Verisi (MS [EI] m/z)
2a	734.5 M ⁺ (%100)
2b	748.4 M ⁺ (%100)
2c	763.8 M ⁺ (%100)
2d	776.3 M ⁺ (%100)
2e	790.4 M ⁺ (%100)
2f	804.6 M ⁺ (%100)
2g	818.5 M ⁺ (%100)

3.2. Sentez Çalışmalarına Ait Verilerin Değerlendirilmesi

Sentez çalışmasının ilk basamağını, sentezi literatürde var olan 4-formilfenil-4-bromobenzen sülfonat bileşiği (1) oluşturmaktadır ve senteze ilişkin denklem aşağıda gösterilmiştir. Sentezlenen bileşiğin erime noktası ve spektroskopik verileri literatürle uyum içerisindedir. (Tokalı vd., 2021)

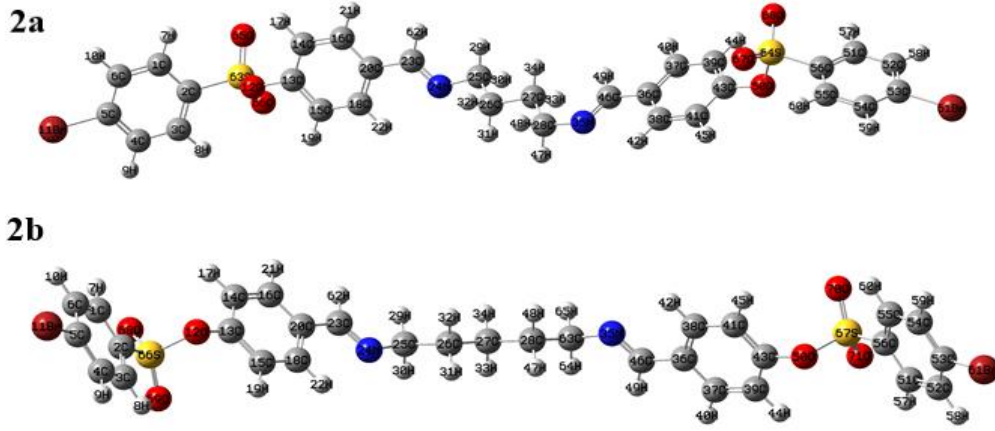


Sentezin 2.basamağını ise, Schiff bazı içeren 4-bromobenzen sülfonat bileşiklerinin (**2(a-g)**) sentezi oluşturmakta. Senteze ilişkin mekanizma aşağıda gösterilmiştir.



2(a-g) bileşiklerinin IR spektrumları incelendiğinde, başlangıç bileşiklerine ait olan karbonil (C=O) ve amino (NH₂) titreşim bantları gözlenmedi. Schiff bazı yapılarını destekleyen ¹H-NMR spektrumları incelendiğinde, CH=N imin gruplarının proton sinyalleri singlet olarak 8.30-8.33 ppm aralığında gözlemlenirken, karbon sinyalleri 159.36-159.72 ppm'de gözlemlendi. Alkil grupları için proton ve karbon sinyalleri sırasıyla 1.26-3.51 ppm ve 29.18-60.91 ppm'de beklenen aralıklarda görüldü. Bileşiklerin yapısında yer alan benzen halkalarının proton ve karbon sinyalleri ise aromatik bölgede beklendiği şekilde gözlemlendi. Bu verilere ilaveten **2(a-g)** bileşiklerinin kütle spektrumları da yapıları doğrular nitelikteydi.

3.3. DFT Çalışmaları



Şekil 3. 2a ve 2b bileşiklerinin DFT/B3LYP/6-311G(d,p) yöntemi ile optimize edilmiş moleküler yapıları.

2a ve **2b** bileşiklerinin IR ve NMR hesaplamaları 6-311G(d,p) temel setli DFT/B3LYP yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçeklendirilmiş FT-IR ve NMR verileri deneysel verilerle birlikte sırasıyla Tablo 5 ve Tablo 6'da sunuldu. Tablo 5'den, **2a** ve **2b** bileşiklerinin moleküler yapısını doğrulayan N=C–H, N=C–H ve S=O bantları, FT-IR spektrumlarında sırasıyla; 2944/2931 cm^{-1} , 1644/1644 cm^{-1} ve 1376 cm^{-1} , 1151/1373 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} olarak gözlemlendi ve bu bantlar N=C–H için 2921-2848/2874 cm^{-1} , N=C–H için 1667 cm^{-1} , 1665/1665 cm^{-1} , 1664 cm^{-1} ve S=O için 1294/1294 cm^{-1} olarak hesaplandı. Dolayısıyla, teorik verilerin deneysel sonuçlarla iyi bir uyum içinde olduğu ve DFT hesaplamalarının spektral verileri iyi bir şekilde desteklediği sonucuna varılabilir.

Tablo 5. 2a ve 2b bileşiklerinin bazı deneysel ve hesaplanmış titreşim frekansları (cm⁻¹).

Tayin*	Exp. IR (cm ⁻¹)	Hesaplama (Ölçeklendirme)		Exp. IR (cm ⁻¹)	Hesaplama (Ölçeklendirme)	
		Bileşik 2a			Bileşik 2b	
		Freq.	I _{IR} (km/mol)		Freq.	I _{IR} (km/mol)
v(C–H)arom.	3080	3112-3064	1.96-12.23	3089	3112-3066	2.09-10.53
v(CH2)	2944	2970-2922	66.47-5.40	2931	2973-2902, 2845, 2845	95.08-26.39, 80.07, 45.12
v(N=C _{46,23} –H _{49,52}) v(N=C _{46,23} –H _{49,62})	2944	2921-2904 2873,2848	40.36-9.49 80.40, 62.62	2931	2874,2874	84.94, 80.19
v(N _{35,24} =C _{46,23} –H)	1644	1667, 1665	58.12, 148.79	1644	1665, 1664	10.24, 228.27
v(C=C)arom.	1577	1590-1560	23.40-72.37	1599	1590-1560	23.47-41.53
v(O=S _{64,63} =O)	1376, 1151	1294, 1109 1294, 1100	98.61,118.83 93.18,128.03	1373,1148	1294, 1294	39.23, 152.57

* v; gerilme.

Tablo 6'dan da görülebileceği gibi, **2a** ve **2b** bileşiklerinin ¹³C-NMR spektrumlarında N=CH sinyalleri 159.72/159.64 ppm'de gözlenmiş ve sırasıyla 163.94, 160.31/163.55, 163.56 ppm olarak hesaplandı. Ayrıca, **2a** ve **2b** bileşikleri için C-H₂ sinyalleri 60.68, 28.68/24.73, 30.47, 60.80 ppm'de gözlenmiş ve sırasıyla 68.40, 33.02, 26.70, 61.587/68.49, 36.42, 29.36, 36.42, 68.50 ppm olarak hesaplandı. Benzer şekilde, **2a** ve **2b** bileşiklerinin ¹H-NMR spektrumlarında, N=C-H protonları sırasıyla 8.33 ve 8.31 ppm'de gözlemlendi. Bunlar sırasıyla 8.56, 8.50 ppm ve 8.53, 8.53 ppm olarak elde edildi. Dolayısıyla, bu veriler dikkate alındığında, deneysel ve hesaplanan NMR verilerinin birbirleriyle uyumlu olduğu sonucuna varılabilir.

Tablo 6. 2a ve 2b bileşiklerinin deneysel ve teorik, ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR verileri (ppm).

Atom	Bileşik 2a		Bileşik 2b	
	Exp.	Hesaplama (DMSO içinde)	Exp.	Hesaplama (DMSO içinde)
(N= C _{23,46} H)	159.72	163.94, 160.31	159.64	163.55, 163.56
(C _{1,2,3,4,5,6}) _{arom.}	129.92, 133.49, 135.77, 128.86	133.10, 142.66, 132.89, 137.38, 163.94, 137.17	129.88, 133.48, 135.84	133.31, 142.80, 133.05, 137.20, 153.99, 137.29
(C _{36,37,38,39,41,43}) _{arom.}	122.90, 130.57, 133.71, 150.66	141.72, 136.92, 129.85, 132.80, 129.47, 155.13	122.86, 130.62, 133.81, 150.58	141.05, 137.17, 130.75, 129.64, 129.69, 155.53
(C _{13,14,15,16,18,20}) _{arom.}	122.90, 130.57, 133.71, 150.66	155.55, 129.73, 129.25, 137.37, 130.76, 141.02	122.86, 130.62, 133.81, 150.58	155.52, 129.63, 129.69, 137.18, 130.75, 141.06
(C _{25,26,27,28} -H ₂)-2a (C _{25,26,27,28,63} -H ₂)- 2b	28.68, 60.68	68.40, 33.02, 26.70, 61.58 -----	24.73, 30.47, 60.80	68.49, 36.42, 29.36, 36.42, 68.50
(C _{51,52,53,54,55,56}) _{arom.}	129.92, 133.49, 135.77	133.14, 137.39, 160.31, 137.28, 133.18, 143.01	129.88, 133.48, 135.84	133.04, 137.22, 154.02, 137.30, 133.30, 142.77
(N= C-H _{49,62})	8.33	8.56, 8.50	8.31	8.53, 8.53
(CH _{7,8,9,10}) _{arom.}	7.13, 7.74-7.80	7.94, 7.97, 7.79, 7.74	7.13, 7.72- 7.81	7.95, 7.96, 7.79, 7.77
(CH _{17,19,21,22}) _{arom.}	7.90, 7.74-7.80	7.55, 7.53, 7.68, 8.42	7.89, 7.72- 7.81	7.56, 7.50, 7.64, 8.37
(CH _{40,42,44,45}) _{arom.}	7.90, 7.74-7.80	7.68, 8.41, 7.56, 7.52	7.89, 7.72- 7.81	7.64, 8.37, 7.56, 7.50
(C-H _{29,30}) (C-H _{31,32}) (C-H _{33,34}) (C-H _{47,48}) (C-H _{64,65})2b	1.65, 3.59	3.49, 4.14 2.05, 1.28 1.77, 1.82 4.15, 4.10 -----	1.35, 1.65, 3.55	3.41, 4.04 2.01, 1.30 1.49, 1.49 1.30, 2.01 3.41, 4.04
(CH _{57,58,59,60}) _{arom.}	7.13, 7.74-7.80	7.92, 7.78, 7.82, 7.97	7.13, 7.72- 7.81	7.96, 7.78, 7.77, 7.95

3.4. Antikanser Aktivite

3.4.1. NCI-60 Tarama Metodolojisine Göre Moleküllerin Değerlendirilmesi

Çalışma grubumuz tarafından sentezlenen moleküllerin hücre proliferasyonu üzerine olan antikanser etkilerini NCI-60 tarama metodolojisine göre değerlendirmek için MTT testi kullanıldı. Buna göre **2a**, **2b** ve **2g** (GI_{50} değerleri 1.01-2.78, TGI değerleri 1.60- >500, ve LC_{50} değerleri 32.3- >500 $\mu\text{g/mL}$) molekülleri bütün kanser hücrelerinde kontrol antikanser ilacı olan 5FU'dan daha fazla antikanser etki sergiledi (Tablo 7 ve Tablo 8). Ancak 5FU antikanser ilacıyla karşılaştırıldığında bu moleküller normal akciğer Beas2B hücreleri ve normal kondrosit HC hücreleri üzerinde oldukça sitotoksik etkiye neden oldu (GI_{50} : 1.05-1.35, TGI: 1.30-3.43, ve LC_{50} : 3.99-155.5 $\mu\text{g/mL}$) (Tablo 9). Aslında bu **2a**, **2b** ve **2g** moleküllerinin normal hücrelere karşı toksik etkileri bu bileşiklerin kimyasal olarak modifiye edilerek azaltılırsa kanser tedavisinde iyi bir seçenek olabilir. Grubun diğer moleküllerinin akciğer kanseri hücreleri üzerindeki antikanser etkisine bakıldığında 5FU antikanser ilacına benzer olduğu görüldü. Ancak normal Beas2B hücrelerinde istenmeyen toksik sonuçları 5FU'dan oldukça fazlaydı (GI_{50} : 1.00-1.65, TGI: 1.01-4.64, ve LC_{50} : 2.24-109.2 $\mu\text{g/mL}$) (Tablo 9). Bu nedenle söz konusu moleküllerin akciğer kanseri tedavisine uygun olmadığı anlaşıldı. **2d**, **2f**, **2e** ve **2c** moleküllerinin antiproliferatif etkileri normal hücrelerdeki HC hücreleri açısından incelendiğinde bu moleküllerin güvenli olduğu görüldü (GI_{50} : 1.22-1.99, TGI: 3.71-8.69, ve LC_{50} : >500 $\mu\text{g/mL}$) (Tablo 9). Ancak Tablo 7 incelendiğinde, söz konusu moleküllerin sergilediği antikanser aktivitenin, kemik kanseri hücrelerinde kontrol antikanser ilacı 5FU'ya benzer veya daha yüksek düzeyde bulunduğu, bunların hücreler üzerinde daha yüksek antikanser etkiye neden olduğu tespit edildi (GI_{50} : 1.52-3.97, TGI: 7.08-71.3, ve LC_{50} : > 500 $\mu\text{g/mL}$) (Tablo 8).

NCI-60 sağ kalım parametreleri açısından öne çıkan bu moleküllerin etkilerine bakıldığında hem GI_{50} hem TGI hem de LC_{50} değerlerinin sadece kemik kanseri hücre hatlarında istenilen aralıkta olduğu görüldü. Bu bulgular, bu moleküllerin bu kanser türleri için kansere özgü olduğunu göstermekte. Özellikle uygulama yapılan tüm kemik kanseri hücre hatları göz önüne alındığında, **2d**, **2f** ve **2c** moleküllerinin ileri klinik öncesi çalışmalar için en uygun olduğu görülmekte (GI_{50} değerleri 1.52-2.15, TGI değerleri 1.74-71.3, ve LC_{50} değerleri 40.8- > 500 $\mu\text{g/mL}$ kanser hücreleri için ve GI_{50} değerleri 1.22 - 1.99, TGI değerleri 3.71 - 8.69, ve LC_{50} değerleri > 500 $\mu\text{g/mL}$ normal hücreler için).

Tablo 7. A549, Calu1 ve H1650'ye karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*

Bileşikler (µg/mL)	A549**			Calu1**			H1650**		
	GI50	TGI	LC50	GI50	TGI	LC50	GI50	TGI	LC50
2d	3.18	>500	>500	1.24	24.8±1.3	>500	1.58	34.7±1.3	>500
2f	1.27	>500	>500	1.06	4.37	>500	1.31	11.2±0.6	>500
2a	2.78	>500	>500	1.01	2.29	>500	1.34	5.48	>500
2e	1.33	>500	>500	1.01	2.08	>500	1.38	7.48	>500
2c	2.98	>500	>500	1.00	1.08	>500	1.16	12.0±0.6	>500
2b	1.74	>500	>500	1.05	2.19	>500	1.24	4.25	>500
2g	1.37	62.1±2.7	>500	1.01	1.69	>500	1.25	4.27	>500
5FU	1.44	47.1±1.7	470.0±18	1.72	61.8±3.1	450.4±16	1.55	28.6±1.4	392.0±14.2

* Belirtilen yüzde inhibisyon, üç bağımsız ölçümün ortalama değerleri ±SD

**Yüzde inhibisyon 10'dan küçükse SD değeri <0,5'tir.

Tablo 8. MG63, Saos2, ve SW1353'e karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*

Bileşikler (µg/mL)	MG63**			Saos2**			SW1353**		
	GI50	TGI	LC50	GI50	TGI	LC50	GI50	TGI	LC50
2d	2.03	10.9±0.5	>500	1.83	11.0±0.5	>500	1.08	1.74	40.8±2.0
2f	2.15	13.3±0.6	>500	2.07	18.2±1.0	>500	1.21	2.60	118.3±4.1
2a	2.20	11.5±0.5	>500	2.14	12.5±0.6	>500	1.06	1.60	32.3±1.3
2e	1.89	9.97	>500	3.97	>500	>500	2.66	26.9±1.7	>500
2c	1.67	71.3±3.5	>500	1.52	7.08	>500	1.53	3.63	47.7±2.2
2b	1.13	2.15	96.6±4.0	1.68	5.74	347.6±14.3	1.31	2.71	39.9±1.9
2g	1.18	2.98	>500	1.73	8.68	>500	1.42	4.31	438.6±15.6
5FU	1.82	52.7±2.8	429.4±21	1.43	42.7±2.0	431.2±19	1.56	40.5±1.9	409.3±15

* Belirtilen yüzde inhibisyon, üç bağımsız ölçümün ortalama değerleri ±SD

**Yüzde inhibisyon 10'dan küçükse SD değeri <0,5'tir.

Tablo 9. Beas2B ve HC'ye karşı test edilen bileşikler için GI50, TGI ve LC50 değerleri*

Bileşikler ($\mu\text{g/mL}$)	Beas2B**			HC**		
	GI50	TGI	LC50	GI50	TGI	LC50
2d	1.00	1.02	2.75	1.92	7.92	>500
2f	1.00	1.01	2.24	1.22	3.71	>500
2a	1.13	1.73	10.0 $\pm$ 0.5	1.35	3.43	155.5 $\pm$ 5.7
2e	1.46	2.98	23.4 $\pm$ 1.0	1.35	7.73	>500
2c	1.65	4.64	109.2 $\pm$ 4.4	1.99	8.69	>500
2b	1.05	1.30	3.99	1.15	2.23	93.5 $\pm$ 3.9
2g	1.29	2.29	14.1 $\pm$ 0.6	1.29	3.04	125.0 $\pm$ 4.2
5FU	1.50	52.7 $\pm$ 2.0	428.9 $\pm$ 17	1.66	57.2 $\pm$ 2.3	433.6 $\pm$ 18

* Belirtilen yüzde inhibisyon, üç bağımsız ölçümün ortalama değerleri $\pm$ SD

**Yüzde inhibisyon 10'dan küçükse SD değeri <0,5'tir.

3.4.2. Yeni Bileşiklerin Sitotoksik Aktivitesi

Sentezlenen bileşiklerin, hücre membranlarında oluşturabileceği deformasyonlar sonucu hücre dışı ortama salınan sitoplazmik laktat dehidrojenaz (LDH) enziminin miktarının ölçülmesi, moleküllerin sitotoksik etkileri hakkında bilgi sunmakta. LDH aktivitesi, bir LDH sitotoksisite testi ile belirlendi. Bu çalışmada, test edilen moleküllerin neden olduğu sitotoksisite, TGI konsantrasyonları kullanılarak değerlendirildi. MTT proliferasyon testinde etkili olduğu belirlenen **2d**, **2f**, **2e** ve **2c** bileşenleri, TGI konsantrasyonunda HC normal hücre hatları için %17.50-19.27 arasında, kemik kanseri hücreleri için ise %5.25-35.91 arasında değişen orta derecede sitotoksisite değerleri sergiledi (Tablo 10). Buna karşın, aynı moleküllerin akciğer kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, TGI konsantrasyonunda Beas2B normal hücre hatları için %30.25-35.16 ve akciğer kanseri hücreleri için ise %4.02-38.64 arasında değişen değerlerle, pozitif kontrol olan 5FU'yu aşan sonuçlar gösterdi (Tablo 10).

Tablo 10. Bileşiklerin TGI konsantrasyonlarında hücelere karşı sergilediği % sitotoksosite değerleri*, **

% Sitotoksosite	A549	Calu1	H1650	MG63	Saos2	SW1353	Beas2B	HC
2d	4.02	18.11	16.15	20.49	21.30	35.17	34.44	19.27
2f	5.36	31.28	21.24	23.27	28.16	31.91	35.15	18.16
2a	6.12	32.30	27.04	21.63	22.31	40.83	31.51	28.41
2e	4.17	34.71	25.16	27.88	5.25	12.94	33.80	17.50
2c	5.41	38.64	18.84	11.04	28.34	29.71	30.25	18.50
2b	4.16	32.57	29.80	32.54	27.42	33.75	39.34	36.16
2g	8.63	35.08	28.19	31.65	26.48	29.35	37.19	31.23
5FU	14.83	16.74	15.30	14.76	15.81	13.46	15.08	15.12

*Sitotoksosite yüzdesi, üç bağımsız ölçümün ortalama değerleri $\pm$ SD'leri olarak kaydedildi.

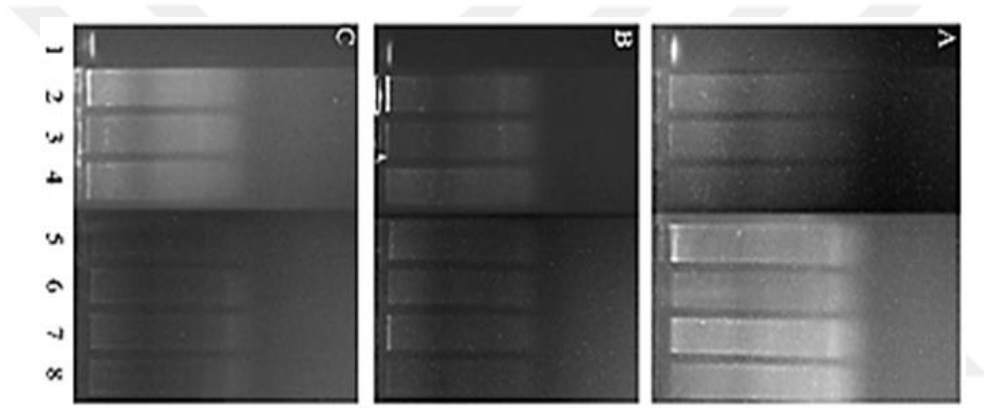
**Yüzde inhibisyonun SD değeri <3,0'dır.

Bu moleküller akciğer kanseri üzerinde etkili olsa da normal akciğer hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri çok yüksek olduğundan ileri çalışmalar için uygun değildir. Ancak normal hücreler üzerindeki yüksek toksisite, moleküllerde yapılan kimyasal modifikasyonlarla ortadan kaldırılırsa, o zaman bu moleküller iyi bir antikanser aday olabilir. Sırasıyla terapötik özelliği gösteren MTT ve sitotoksik özelliği ifade eden LDH test sonuçları birlikte değerlendirildiğinde **2d**, **2f**, **2e** ve **2c** pozitif kontrol 5FU ile karşılaştırıldığında kemik kanserine ve normal hücelere karşı en optimal antiproliferatif ve sitotoksik etkiyi gösterdiği özellikle vurgulandı (Tablo 8, Tablo 9 ve Tablo 10). Genel olarak, bu **2d**, **2f**, **2e** ve **2c** molekülleri kemik kanseri hücre hatları için yeterince toksik olduğu ancak normal hücelere karşı da güvenli olduğu ve bu nedenle daha ileri klinik öncesi çalışmalar için bir fırsat yarattığı anlaşılmakta.

3.4.3. DNA Degradasyon Testi

Bir ajan tarafından tetiklenen apoptotik süreçte, spesifik bir kaspaz tarafından aktive edilen DNaz, DNA'nın belirli bölgelerinde kesilmelere yol açarak yaklaşık 200 baz çifti büyüklüğünde fragmanların oluşmasına sebep olur. Bu DNA parçaları, agaroz jel üzerinde

merdiven şekline benzer bir yapı oluşturarak, apoptotik süreçlerin izlenmesine imkân verir. Bu çalışmada, madde uygulanmayan hücrelerde (kuyu 1) DNA fragmentasyonu gözlemlenmemiş ve genomik DNA bozulmadan kuyunun sonuna kadar ilerledi. Ancak, madde ile tedavi edilen A549 (A), Beas2B (B) ve MG63 (C) hücrelerinde DNA fragmanlarının oluşumu tetiklendi (Şekil 4). Bununla birlikte, kontrol hücrelerinde (Beas2B(B)) ve kanser hücrelerinde (A549(A) ve MG63(C)) daha az DNA parçalanması gözlemlendi. Bu bulgu, moleküllerin akciğer ve kemik kanseri hücrelerinde, akciğerin normal hücrelerine göre daha güçlü bir antikanser etkisi gösterdiğini açıkça ortaya koymakta. Sonuç olarak, bu moleküller hücrede apoptotik süreci tetikleyebilir ve apoptotik DNA fragmentasyonunun meydana gelmesine yol açabilir.



Şekil 4. 2g (2), 2b (3), 2c (4), 2e (5), 2a (6), 2f (7), ve 2d (8) moleküllerinin A549 (A), Beas2B (B), ve MG63 (C) hücre hatlarına karşı sergilediği DNA degradasyon test sonucu. Bütün hücre hatlarında kuyu (1) kontroldür

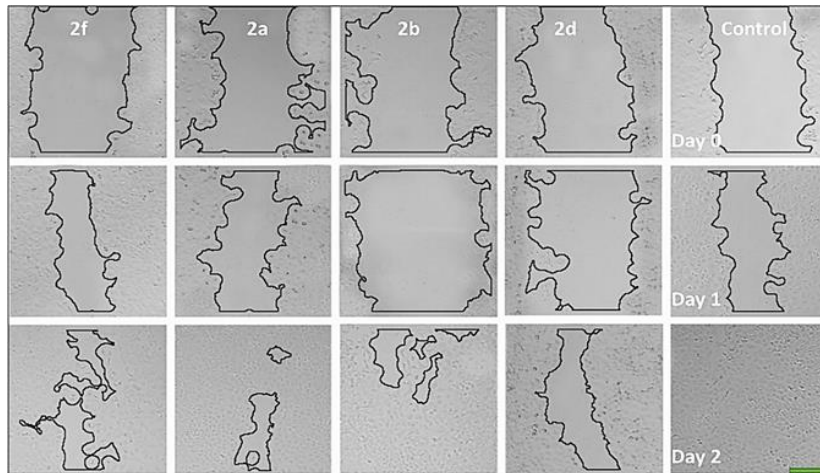
3.4.4. Test Maddelerinin Hücre Migrasyonuna Olan Etkisi

Kanser hücrelerinin migrasyon yeteneği, tümör progresyonunun temel özelliklerinden biri olup, aynı zamanda yeni farmakolojik ajanlar için önemli bir hedef olarak kabul edilmekte. Migrasyon kapasitesine sahip hücrelerin, apoptoz gibi hücre ölüm mekanizmalarından kaçabildiği bilinmekte. Bu bağlamda, yeni geliştirilen terapötik bileşiklerin temel hedeflerinden biri, tümör hücrelerinin migrasyon kabiliyetini belirgin şekilde azaltmaktır. Zaman serisine dayalı olarak gerçekleştirilen migrasyon testleri, uygulanan moleküllerin kontrol grubu hücrelerine kıyasla migrasyonu belirli düzeylerde inhibe ettiğini ortaya koydu (Şekil 5 ve Şekil 6). A549 hücre hattında gerçekleştirilen analizlerde, ImageR yazılımı kullanılarak değerlendirilen mikroskopik görüntüler, özellikle **2d** numaralı bileşiğin kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde migrasyonu engellediğini

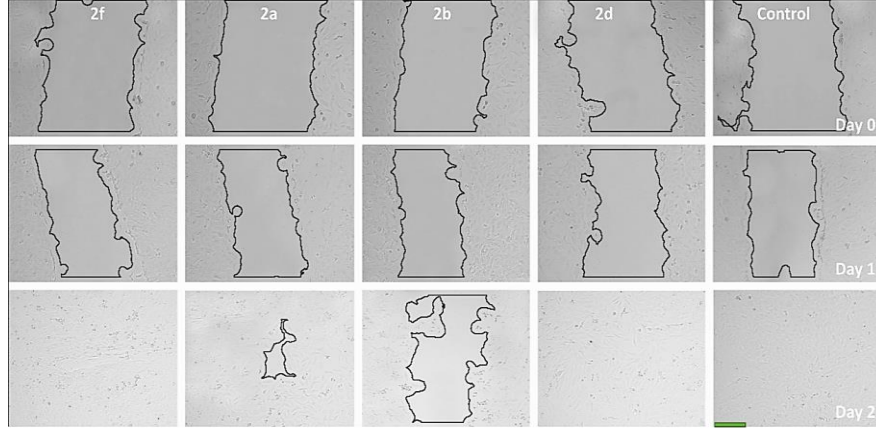
gösterdi (boşluk dolum oranı: %35.85) (Şekil 5, Tablo 11). MG63 hücre hattına ait analizlerde ise yalnızca **2b** numaralı bileşiğin, diğer örneklerden farklı olarak, sınırlı da olsa göçü engelleme potansiyeli taşıdığı gözlemlendi (boşluk dolum oranı: %25.03) (Şekil 6 ve Tablo 11). Bu bulgular, MG63 hücreleri açısından değerlendirildiğinde, diğer test edilen bileşiklerin migrasyon üzerinde kayda değer bir etkisinin bulunmadığını ortaya koymakta. Bu nedenle, bu moleküllerin MG63 hücrelerinde gösterdiği antikanser aktivitenin temel mekanizmasının migrasyon inhibisyonu değil; muhtemelen apoptoz gibi alternatif hücre sel yollar üzerinden gerçekleştiği düşünülmekte.

Tablo 11. ImageR ile moleküllerin migrasyon analizleri

% Alan	A549 hücre hattı				MG63 hücre hattı			
	0.gün boşluk	1.gün boşluk	2.gün boşluk	Boşluk doldurma oranı	0.gün boşluk	1.gün boşluk	2.gün boşluk	Boşluk doldurma oranı
2f	62.95	26.58	16.62	46.33	75.28	52.37	0	75.28
2a	57.56	37.22	8.79	48.77	81.61	50.95	4.58	77.03
2b	64.48	80.90	10.22	54.25	71.52	47.94	46.48	25.03
2d	59.68	57.19	23.83	35.85	73.57	56.76	0	73.57
Kontrol 1	57.94	31.51	0	57.94	76.56	51.64	0	76.56
Kontrol 2	56.72	32.47	0	56.72	72.10	49.35	0	72.10



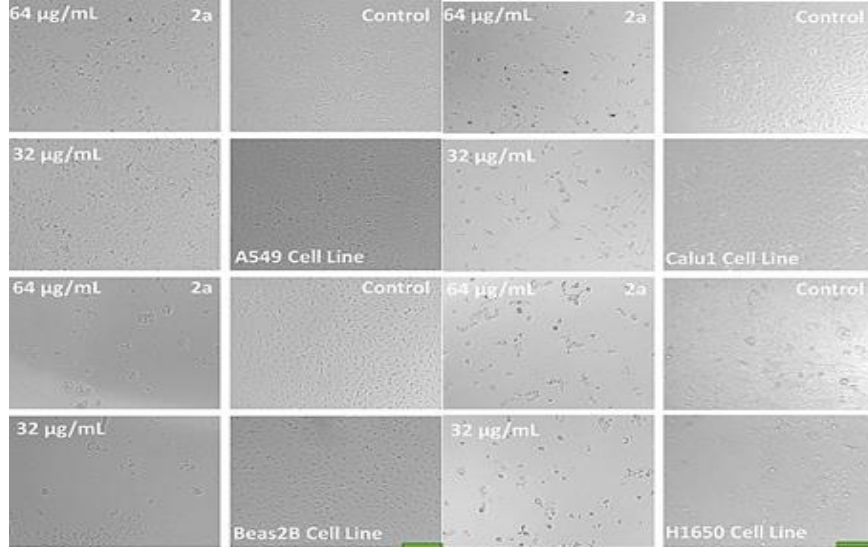
Şekil 5. 2f, 2a, 2b, ve 2d moleküllerinin A549 hücre hattı migrasyonuna olan etkileri.
Bar 100 µm



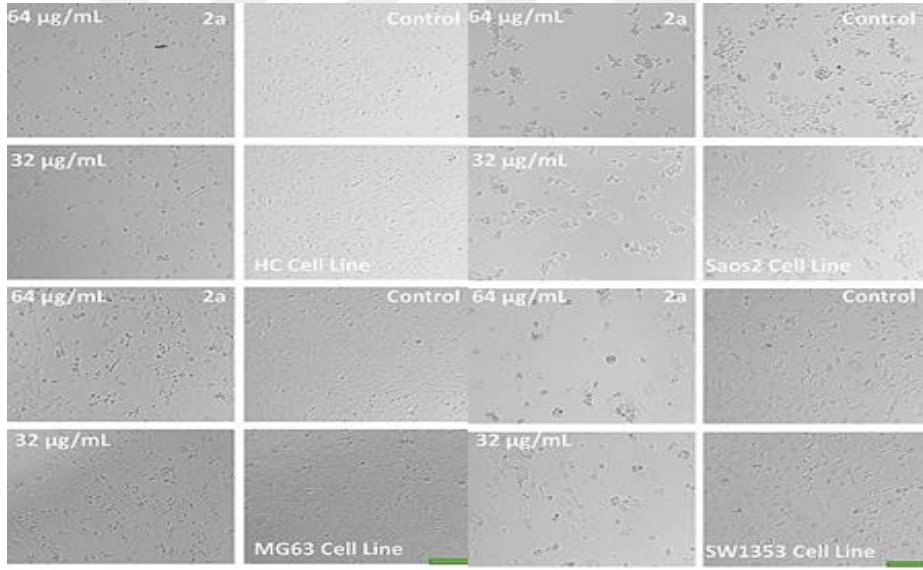
Şekil 6. 2f, 2a, 2b, ve 2d moleküllerinin MG63 hücre hattı migrasyonuna olan etkileri. Bar 100 µm

3.4.5. Yeni Moleküllerin Hücre Morfolojisi Üzerindeki Etkileri

Bu çalışmada, **2a** bileşiğinin iki farklı dozda (32 ve 64 µg/mL) uygulanmasının ardından, akciğer kanseri hücre hatları (A549, Calu1 ve H1650), kemik kanseri hücre hatları (Saos2, MG63 ve SW1353), normal akciğer hücresi (Beas2B) ve normal kondrosit hücresi (HC) üzerindeki morfolojik etkileri incelendi. Uygulamadan 24 saat sonra hücrelerde meydana gelen yapısal değişiklikler mikroskopik olarak gözlemlendi ve kayıt altına alındı. İlgili konsantrasyonlarda **2a** bileşiği ile muamele edilen tüm hücre hatlarında, morfolojik değişimlerin belirgin şekilde ortaya çıktığı gözlemlendi. Bu değişiklikler arasında hücre hacminde küçülme, zayıf yapışma, hücrelerin süspansiyona geçmesi, yuvarlaklaşma, hücrelerin toplanması, granüler yapıların oluşumu, hücresel büzülme ve hücre agregalarının parçalanması gibi bulgular yer almakta (Şekil 7 ve Şekil 8). Gözlemlenen bu yapısal değişiklikler, **2a** molekülünün apoptoz gibi programlanmış hücre ölüm mekanizmalarını aktive ettiğini ve bu etkinin MTT, LDH, DNA parçalanması ve migrasyon test sonuçlarıyla uyumlu olduğunu desteklemekte.



Şekil 7. 2a'nın iki farklı konsantrasyonda A549, Beas2B, Calu1 ve H1650 hücre hatlarının morfolojisi üzerindeki etkisi. DMSO hücreleri kontrol olarak ele aldı. Ölçek 50 µm'dir



Şekil 8. İki farklı konsantrasyonda 2a'nın HC, MG 63, Saos2 ve SW1353 hücre hatlarının morfolojisi üzerindeki etkisi. DMSO hücreleri kontrol olarak ele aldı. Ölçek 50 µm'dir

3.5. Antimikrobiyal Aktiviteler

Bileşiklerin MIC değerleri değerlendirildiğinde, **2a**, **2c**, **2d**, **2e**, **2f** ve **2g** bileşiklerinin MIC değerlerinin 625-1250 µg/mL aralığında olduğu ve antimikrobiyal aktivitelerinin çok iyi olmadıkları görülmekte. Bileşik **2g**, tüm test edilen mikroorganizmalara karşı 1250 µg/mL MIC değeri ile bileşikler arasında en düşük antimikrobiyal etkiyi gösterdiği

belirlendi. Sentezlenen bileşikler arasında, bileşik **2b**, test edilen mikroorganizmalara karşı en düşük MIC değerlerine (39.1-156 µg/mL) sahip olduğu ve diğer sentezlenen bileşiklere kıyasla önemli ölçüde yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Bileşik **2b**, test edilen mikroorganizmalar arasında *B. subtilis* ve *E. coli*'ye karşı en yüksek MIC değerini (156 µg/mL) ve en düşük antibakteriyal etkiyi gösterirken, *K. pneumoniae*'ye karşı ortalama bir MIC değeri (78.1 µg/mL) ve ortalama bir antibakteriyal etki gösterdiği belirlendi. Ancak, bileşik **2b**'nin *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *Y. pseudotuberculosis*, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı düşük bir MIC değerine (39.1 µg/mL) sahip olduğu ve yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. **2b**'nin *P. aeruginosa*'ya karşı MIC değeri, standart antibiyotik olarak kullanılan ampisilin'in *P. aeruginosa*'ya karşı gösterdiği MIC değerinden (128 µg/mL) çok daha düşüktür. Bu nedenle, bileşik **2b**, *P. aeruginosa*'ya karşı standart antibiyotikten çok daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlendi. Bu sonuç, bileşik **2b**'nin bu bakteriye karşı olumlu bir antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunun göstergesidir.

Tablo 12, sentezlenen bileşiklerin minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) değerlerini, sekiz bakteri ve fungus suşuna yönelik standart antibiyotiklerin MIC değerleri ile birlikte sunmakta.

Tablo 12. 2(a-g) bileşiklerinin ve antibiyotiklerin test edilen mikroorganizmalara karşı µg/mL cinsinden minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) değerleri.

Mikroorganizmalar	Bileşikler							Antibiyotikler	
	2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	Ampicillin	Fluconazole
<i>B. cereus</i>	625	39.1	625	625	625	625	1250	15	N.T
<i>B. subtilis</i>	1250	156	1250	1250	1250	1250	1250	10	N.T
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	625	39.1	625	1250	1250	1250	1250	18	N.T
<i>K. pneumoniae</i>	625	78.1	1250	625	625	625	1250	16	N.T
<i>E. coli</i>	1250	156	1250	1250	1250	1250	1250	8	N.T
<i>P. aeruginosa</i>	1250	39.1	1250	1250	1250	1250	1250	128	N.T
<i>S. aureus</i>	625	39.1	1250	1250	1250	1250	1250	10	N.T
<i>E. faecalis</i>	1250	39.1	625	1250	1250	1250	1250	10	N.T
<i>C. albicans</i>	625	39.1	625	1250	1250	1250	1250	N.T	8

(N.T: test edilmedi)

Sentezlenen bileşikler arasında, bileşik **2b**, test edilen mikroorganizmalara karşı en düşük MIC değerlerine (39.1-156 µg/mL) sahip olduğu ve diğer yeni sentezlenen bileşiklere kıyasla önemli ölçüde yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

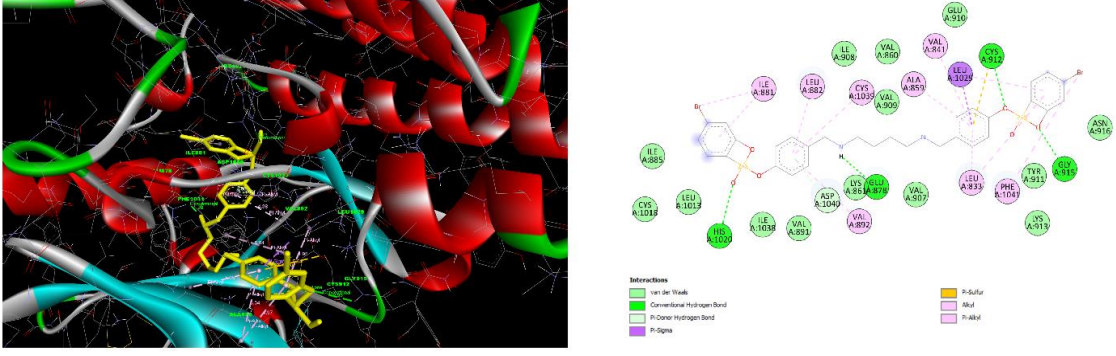
3.6. Moleküler Docking Çalışmalar

Moleküler docking, ilaç geliştirme sürecinin erken aşamalarında kritik bir bileşen olup, çok sayıda potansiyel ilaç adayının etkin bir şekilde değerlendirilmesini sağlar. Bu yöntem, hedef proteinlerle bağlanma etkileşimlerinin tahmin edilmesine ve bu etkileşimlerin gücünün nicel olarak değerlendirilmesine olanak tanır. Deneysel taramalara kıyasla hem zaman hem de kaynak tasarrufu sağlayarak, umut vadeden bileşiklerin daha ileri araştırmalar için seçimini kolaylaştırır (Goreci, 2022).

Bu çalışmada, **2a** bileşiğinin Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) ve Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Resptörü 1 (VEGFR-1) ile etkileşimlerini araştırmak amacıyla moleküler docking simülasyonları gerçekleştirildi. EGFR, Epidermal Büyüme Faktörü ailesine ait ekstraselüler protein ligandlarının reseptörü olarak işlev gören bir transmembran proteindir (Herbst, 2004). Çeşitli kanser türlerinde, EGFR ekspresyonunu veya fonksiyonunu etkileyen mutasyonlar karsinogeneze yol açabilmektedir (Zhang vd., 2007). Ayrıca, VEGFR-1 kan damarlarının büyümesinde kritik bir rol oynar ve anjiyogeneze ilişkili tedavilerin geliştirilmesi için tıbbi araştırmaların odak noktasıdır. Kanser araştırmalarında, tümörlerdeki damar büyümesini kontrol etmede önemli yere sahiptir (Shibuya, 2006).

Yapılan docking çalışmaları sonucunda, **2a** bileşiğinin her iki reseptöre de güçlü bağlanma afinitesi sergilediği görüldü. Daha düşük bağlanma enerjisi, ligand ve protein arasındaki daha güçlü bir etkileşimi ifade eder. Referans karşılaştırmalarında, EGFR için erlotinib, VEGFR-1 için ise dovitinib ve axitinib kullanılarak, bu bileşiklerin docking sonuçları **2a** bileşiği ile paralel olarak değerlendirildi. Erlotinib, EGFR tirozin kinaz inhibitörü olarak işlev görür ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve pankreas kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılır (Rocha-Lima vd., 2009). Öte yandan, dovitinib, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGFR) gibi Tip III-V RTK'ları hedef alır. Bu reseptörler, belirli kanser hücrelerinde tümör hücresi proliferasyonu ve canlılığını teşvik etmede kilit bir rol oynar (Lee vd., 2014). Axitinib ise ikinci nesil bir tirozin kinaz inhibitörü olup, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörlerini (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) seçici olarak bloke ederek anjiyogenezi, tümör büyümesini ve metastazı etkili bir şekilde

azaltır (Kelly & Rixe, 2009). **2a** bileşiği ve referans bileşiklerin dock edilmiş pozları değerlendirildi ve en düşük bağlanma serbest enerjisi ile inhibisyon sabitine sahip poz seçildi (Tablo 13). **2a** bileşiğinin EGFR ile başarılı etkileşimi sonrası hesaplanan bağlanma serbest enerjisi -10.10 kcal/mol, inhibisyon sabiti ise 39.72 nM olarak ölçülmüştür. Bu sonuç, referans molekül Erlotinib'e kıyasla önemli ölçüde daha güçlü bir bağlanma afinitesi sergiledi. **2a** bileşiği ile EGFR bağlanma bölgesi arasındaki etkileşimler incelendiğinde, 1.81 ile 2.78 Å arasında atomik mesafelere sahip üç konvansiyonel hidrojen bağı oluşturduğu görüldü. Ayrıca, iki karbon-hidrojen bağı, üç Pi-alkil bağı, iki alkil bağı, üç Pi-sigma bağı, bir Pi-donör bağı, bir Pi-anyon bağı ve bir Pi-sülfür bağı dahil olmak üzere toplamda yedi bağın atomik mesafesi 4 Å'den küçük olarak tespit edildi. **2a** bileşiği ile Erlotinib'in ortak olarak bağlandığı önemli amino asitler incelendiğinde, Leu694, Val702, Met769 ve Cys773 gibi amino asitlerin çoğunluğunun ortak olduğu gözlemlendi. Buna karşılık, **2a** bileşiğinin VEGFR-1 reseptörüne bağlanma konfigürasyonu -11.99 kcal/mol bağlanma enerjisi ve 1.61 nM Ki değeri ile daha üstün bir afinite ortaya koydu. Referans ilaçlarla karşılaştırıldığında, bu değerlerin dovitinib ve axitinib'e kıyasla daha avantajlı olduğu, dolayısıyla daha iyi bir bağlanma afinitesi sergilediği görüldü. **2a** molekülü ile referans ilaçların benzer amino asitlerle etkileşime girdiği belirlendi. **2a** ligandı ile VEGFR-1 arasındaki etkileşimlerde, Cys912 amino asidine etkili şekilde bağlanan bir tanesi referans moleküllere benzer şekilde olmak üzere beş konvansiyonel hidrojen bağı olduğu gözlemlendi. Ayrıca, dokuz Pi-alkil bağı, bir Pi-donör bağı, bir Pi-sülfür bağı ve bir Pi-sigma bağı başarıyla oluşturulmuştur. Dock edilen ligand pozisyonları, etkileşimde bulunduğu amino asitler ve meydana gelen etkileşimler Şekil 9 ve Şekil 10'da ayrıntılı olarak gösterilmekte. Yapılan *in silico* analiz sonucunda, **2a** molekülünün hedef proteinleri inhibe etme potansiyeline sahip olduğu anlaşılmakta. Dolayısıyla, bu mevcut bileşik, yenilikçi ve daha etkili ilaçların formülasyonu ve geliştirilmesi için önem vaat etmekte.



Şekil 10. 2a bileşiğinin, VEGFR-1 (3HNG) bölgesindeki temel amino asitlerle etkileşim halinde 2D ve 3D konformasyonlarında ki bağlanma pozisyonlarının gösterilmesi

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, 7 adet bis 4-bromobenzen-sülfonat (**2(a-g)**) türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları FT-IR, ¹H, ¹³C-NMR(APT) ve MS spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Ayrıca DFT çalışmaları ile, teorik ve deneysel verilerinin birbiri ile uyumlu olduğu ortaya konulmuştur.

Sentezlenen bileşiklerin, A549 (ATCC, CCL-185), Calu1 (ATCC, HTB-54) ve H1650 (ATCC, CRL-5883) akciğer kanseri hücre hatları, SW1353 (ATCC, HTB-94), MG63 (ATCC, CRL-1427) ve Saos2 (ATCC, HTB-85) kemik kanseri hücre hatları, Beas2B (RRID, CVCL-0168) normal akciğer hücre hattı ve HC (Sigma Aldrich, 402-05A) normal kondrosit hücre hattına karşı aktiviteleri test edilmiştir. Bileşik **2a**'nın bu bağlamda yapılan testler değerlendirildiğinde, en etkili aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra, antimikrobiyal aktivite testleri de yapılan bileşiklerin, MIC değerleri değerlendirildiğinde, **2a**, **2c**, **2d**, **2e**, **2f** ve **2g** bileşiklerinin MIC değerlerinin 625-1250 µg/mL aralığında olduğu ve antimikrobiyal aktivitelerinin çok iyi olmadıkları ortaya konulmuştur. Etkili antitumor özelliğini gösteren **2a** bileşiğinin Docking çalışması yapılmıştır. Yapılan *in silico* analiz sonucunda, **2a** molekülünün hedef proteinleri inhibe etme potansiyeline sahip olduğu anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, bu mevcut bileşik, yenilikçi ve daha etkili ilaçların formülasyonu ve geliştirilmesi için önem vaat etmektedir.

5. ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, yapılması planlanan ve önerilen katkıları değerlendirecek olursak;

- Bu tez çalışması, Journal of Molecular Structure dergisinde yayınlanmıştır. Bu çalışmanın sentez aşaması genişletilerek (Br atomu yerine farklı halojen atomları veya grupların yer aldığı yeni moleküller ve biyolojik aktivite çalışmalarında yer aldığı) yeni yayın çalışması önerilebilir.
- İfade edilen yeni sentez ve biyolojik aktivite çalışmalarından yeni projeler üretilebilir.
- Bu tez kapsamında sentezlenen 2a bileşiği, *in vitro* antikanser araştırmalarında etkili sonuçlar gösterdiğinden, bu bileşiğin *in vivo* çalışmaları desteklenerek, ilaç olma potansiyelinin değerlendirilmesi düşünülebilir.

6.KAYNAKLAR

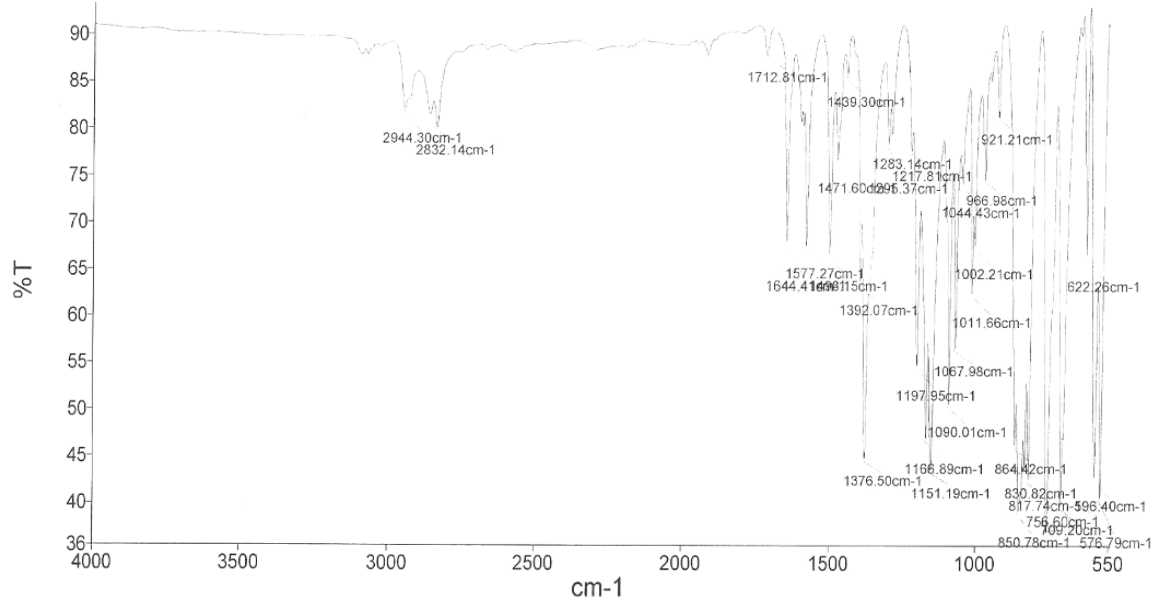
- Algan, D. T. (2015). *Sülfonat esaslı katkı kullanılarak hazırlanan çimento harçlarının mekanik ve mikroyapısal özelliklerine katkı oranının etkisi*. Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir.
- Al-Shboul, T.M.A., El-khateeb, M., Obeidat, Z.H., Ababneh, T.S., Al-Tarawneh, S.S., Al Zoubi, M.S., Alshaer, W., Seni, A.A., Qasem, T., Moriyama, H., Yoshida, Y., Kitagawa, H. & Jazzazi, T.M.A. (2022). Synthesis, Characterization, Computational and Biological Activity of Some Schiff Bases and Their Fe, Cu and Zn Complexes. *Inorganics*, 10(8), 112.
- Arslan-Alaton, I., Yalabik, A. B & Olmez-Hanci, T. (2010). Development of experimental design models to predict Photo-Fenton oxidation of a commercially important naphthalene sulfonate and its organic carbon content. *Chemical Engineering Journal*, 165(2), 597-606.
- Becke, A.D. (1993). Density-functional thermochemistry III. The role of exact Exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648-5652.
- Berhanu, A.I., Gaurav, Mohiuddin, I., Malik, A.K., Aulakh, J.S., Kumar, V. & Ki-Hyun, K. (2019). A review of the applications of Schiff bases as optical chemical sensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 74-91.
- Chen, Y., Zhang, S., Tian, Y., Huang, X., Zhou, L., Liu, S., Chen, G. & Che, Z. (2023). Synthesis, Anti-Oomycete and Anti-fungal Activities of Novel Cinchona Alkaloid Derivatives Containing Sulfonate Moiety. *Chemistry & Biodiversity*, 20(7)
- Çelik, H. (2022). *Sesamol temelli sülfonat esterlerin sentezi ve bazı karbonik anhidraz izoenzimleri üzerine etkileri*. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ağrı.
- Dennington, R., Keith, T., & Millam, J. (2009). GaussView, Version 5.0. 8, R. KS: Dennington, Semichem Inc., Shawnee Mission.
- Ditchfield, R. (1972). Molecular Orbital Theory of Magnetic Shielding and Magnetic Susceptibility. *The Journal of Chemical Physics*, 56, 5688-5691.
- Duan, R., Lv X., Yan, W., Zhou, Y. & Gao, C. (2022). Fabrication of high boron removal reverse osmosis membrane with broad industrial application prospect by introducing sulfonate groups through a polyvinyl alcohol coating. *Journal of Membrane Science*, 664, 121079.
- El-Gamal M. I., Semreen M. H., Foster P. A & Potter B. V. L. (2016). Design, synthesis and biological evaluation of new arylamide derivatives possessing sulfonate or sulfamate moieties as steroid sulfatase enzyme inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(12), 2762-2767.

- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery Jr, J.A., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J. & Fox, D.J. (2009). *Gaussian 09 Revision A.1*, Wallingford CT, Gaussian Inc.
- Ghazzali, M., Khattab, S. A. N., Elnakady, Y. A., Al-Mekhlafi, F. A., Al-Farhan, K. & El-Faham, A. (2013). Synthesis, structure, theoretical calculations and biological activity of sulfonate active ester new derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1046, 147-152.
- Gong, J. P., Traganos, F. & Darzynkiewicz, Z. (1994). A selective procedure for DNA extraction from apoptotic cells applicable for gel electrophoresis and flow cytometry. *Analytical Biochemistry*, 218(2), 314-319.
- Goreci, C.Y. (2022). Synthesis and comparative spectroscopic studies, HOMO–LUMO analysis and molecular docking studies of 3,3-(1,4-phenylene)bis[2-(6-chloropyridin-3-yl)prop-2-enenitrile] based on DFT. *Journal of Molecular Structure*, 1263, 133149.
- Guo, T., Xia, R., Chen, M., He, J., Su, S., Liu, L., Li, X. & Xue, W. (2019). Biological activity evaluation and action mechanism of chalcone derivatives containing thiophene sulfonate. *RSC Advances*, 9, 24942-24950.
- Han, T., Cheng, G., Liu, Y., Yang, H., Hu, Y. & Huang, W. (2012). In vitro evaluation of tectoridin, tectorigenin and tectorigenin sodium sulfonate on antioxidant properties. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 409-414.
- Hanwell, M. D., Curtis, E. D., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E. & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4, 17.
- Herbst, R.Y. M.D., Ph.D. (2004). Review of epidermal growth factor receptor biology. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 59(2), 21-26.
- Inan, A., Sünbül, A. B., Caylar, M., Uruş, S., Orhan, Z., Köse, M. & Ispir, E. (2023). Highly effective aldose reductase mimetics: Catalytic transfer hydrogenation of D-Glucose to D-Sorbitol with novel azo-azomethine based Ru(II) complexes. *Journal of Molecular Structure*, 1277, 134844.
- Kağit, R. (2015). *Arensülfonat-Schiff Bazı ligantları içeren geçiş metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu ve katalitik uygulamaları*. Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Kelly, R. J. & Rixe, O. (2009). Axitinib-a selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor. *Targeted Oncology*, 4(4), 297-305.

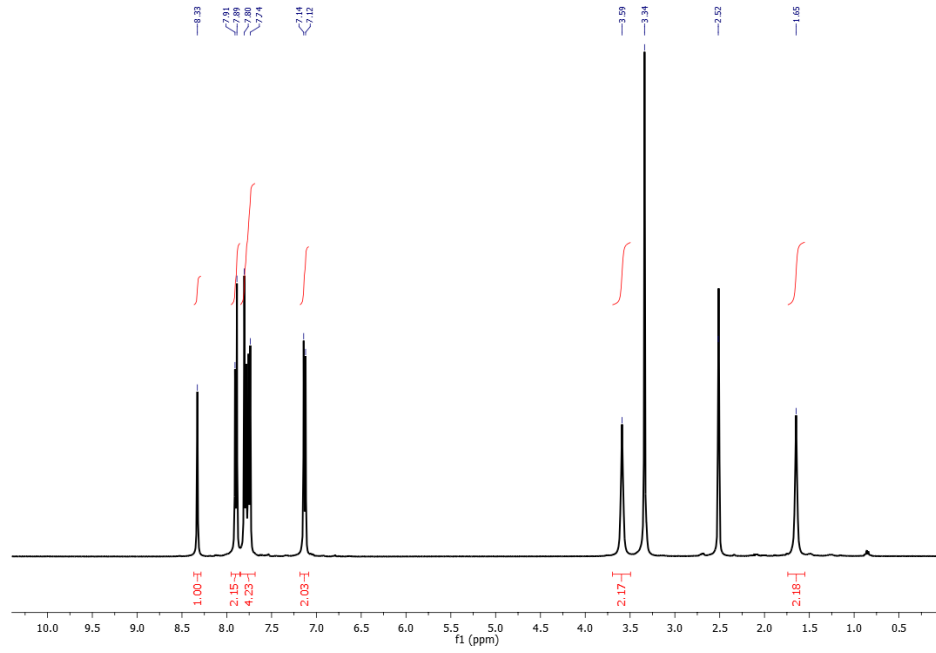
- Kuete, V., Betrandteponno, R., Mbaveng, A. T., Tapondjou, L. A., Meyer, J. J. M., Barboni, J. & Lall, N. (2012). Antibacterial activities of the extracts, fractions and compounds from *Dioscorea bulbifera*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 12(228).
- Lakowicz, J.R. & Weber, G. (1973). Quenching of fluorescence by oxygen. Probe for structural fluctuations in macromolecules. *Biochemistry*, 12(21), 4161-4170.
- Lee, C. K., Lee, M. E., Lee, W. S., Kim, J. M., Park, K. H., Kim, T. S., Lee, K. Y., Ahn, J. B., Chung, H. C. & Rha, S. Y. (2014). Dovitinib (TKI258), a multi-target angiokine inhibitor, is effective regardless of KRAS or BRAF mutation status in colorectal cancer. *American Journal of Cancer Research*, 5(1), 72-86.
- Lei, Z-W., Yao, J., Liu, H., Ma, C. & Yang, W. (2022). Synthesis and Bioactivity of Novel Sulfonate Scaffold-Containing Pyrazolecarbamide Derivatives as Antifungal and Antiviral Agents. *Frontiers in Chemistry*, 10:928842.
- Liu, J., Cui, Y., Lu, M., Lv, J., Dong, L., Guo, J., Zhang, X., Sun, Y., Huang, Y. & Zhang, L. (2022). 6:2 Chlorinated polyfluoroalkyl ether sulfonate as perfluorooctanesulfonate alternative in the electroplating industry and the receiving environment. *Chemosphere*, 302, 134719.
- Mohamed, G.G., Omar, M.M. & Ahmed, Y.M. (2021). Metal complexes of Tridentate Schiff base: Synthesis, Characterization, Biological Activity and Molecular Docking Studies with COVID-19 Protein Receptor. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie (ZAAC)*, 647(23-24), 2201-2218.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. & Olson, A. J. (2009). Autodock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791.
- Naureen, B., Miana, G. A., Shahid, K., Asghar, M., Tanveer, S. & Sarwar, A. (2021). Iron (III) and zinc (II) monodentate Schiff base metal complexes: Synthesis, characterisation and biological activities. *Journal of Molecular Structure*, 1231, 129946.
- Nechepurenko, I. V., Shirokova, E. D., Khvostov, M. V., Frolova, T. S., Sinitsyna, O. I., Maksimov, A. M., Bredikhin, R. A., Komarova, N. I., Fadeev, D. S., Luzina, O. A., Tolstikova, T. G. & Salakhutdinova, N. F. (2019). Synthesis, hypolipidemic anantifungal activity of tetrahydroberberrubine sulfonates. *Russian Chemical Bulletin*, 68, 1052-1060.
- Rocha-Lima, C. M. & Raez, L. E. (2009) Erlotinib (tarceva) for the treatment of non-small-cell lung cancer and pancreatic cancer. *Pharmacy and Therapeutics*, 34(10), 554-64.
- Saadeh, H. A., Abu Shaireh, E. A., Mosleh, I. M., Al-Bakri, A. G. & Mubarak, M. S. (2012). Synthesis, characterization and biological activity of Schiff bases derived from metronidazole. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 2969-2974.

- Shibuya, M. (2006). Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis*, 9, 225–230
- Sinha, D., Tiwari, A. K., Singh, S., Shukla, G., Mishra, P., Chandra, H., Mishra, A. K. (2008). Synthesis, characterization and biological activity of Schiff base analogues of indole-3-carboxaldehyde. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(1), 160-165.
- Su, S., Zhou, Q., Tang, X., Peng, F., Liu, T., Liu, L., Xie, C., He, M. & Xue, W. (2021). Design, synthesis and antibacterial activity of novel myricetin derivatives containing sulfonate. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 152, 345–356.
- Süleymanoglu, N., Ustabas, R., Direkel, Ş., Alpaslan, Y.B. & Ünver, Y. (2017). 1,2,4-triazole derivative with Schiff base; thiol-thione tautomerism, DFT study and antileishmanial activity. *Journal of Molecular Structure*, 1150, 82-87.
- Süleymanoğlu, N., Ünver, Y., Ustabas, R., Direkel, Ş. & Alpaslan, Y.B. (2017). Theoretical and antimicrobial activity study for ethyl{4-[3-(1H-imidazole-1-yl)propyl]-3-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl}acetate. *Spectroscopy Letter*, 50(2), 96–101.
- Systèmes, D. (2017). Dassault systèmes BIOVIA, discovery studio modeling environment. In Dassault Systèmes BIOVIA, *Discovery Studio Modeling Environment*.
- Şenkardeş, S., Han, M. İ., Gürboğa, M., Bingöl Özakpınar, Ö. & Küçükgülzel, G. Ş. (2022). Synthesis and anticancer activity of novel hydrazone linkage-based aryl sulfonate derivatives as apoptosis inducers. *Medicinal Chemistry Research*, 31, 368-379.
- Tokalı, F. S., Demir, Y., Demircioğlu, İ. H., Türkeş, C., Kalay, E., Şendil, K. & Beydemir, Ş. (2021). Synthesis, biological evaluation, and in silico study of novel library sulfonates containing quinazolin-4(3H)-one derivatives as potential aldose reductase inhibitors. *Drug Development Research*, 83, 586-604.
- Tokalı, F.S., Taslimi, P., Sadeghian, N., Taşkın-Tok, T. & Gülçin, İ. (2023). Synthesis, Characterization, Bioactivity Impacts of New Anthranilic Acid Hydrazones Containing Aryl Sulfonate Moiety as Fenamate Isosteres. *ChemistrySelect*, 8(13).
- Wolfe, A., Shimer, G.H. & Meehan, T. (1987). Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA. *Biochemistry*, 26(20), 6392-6396.
- Wolinski, K., Hinton, J.F. & Pulay, P. (1990). Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations, *Journal of the American Chemical Society*, 112(23), 8251-8260.
- Xie, S., Wang, T., Liu, S., Jones, K. C., Sweetman, A. J. & Lu, Y. (2013). Industrial source identification and emission estimation of perfluorooctane sulfonate in China. *Environment International*, 52, 1-8.
- Verma, C. & Quraishi, M.A. (2021). Recent progresses in Schiff bases as aqueous phase corrosion inhibitors: Design and applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 446.
- Zhang, H., Berezov, A., Wang, Q., Zhang, G., Drebin, J., Murali, R. & Greene, M.I. (2007). ErbB receptors: from oncogenes to targeted cancer therapies. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(8), 2051-2058.

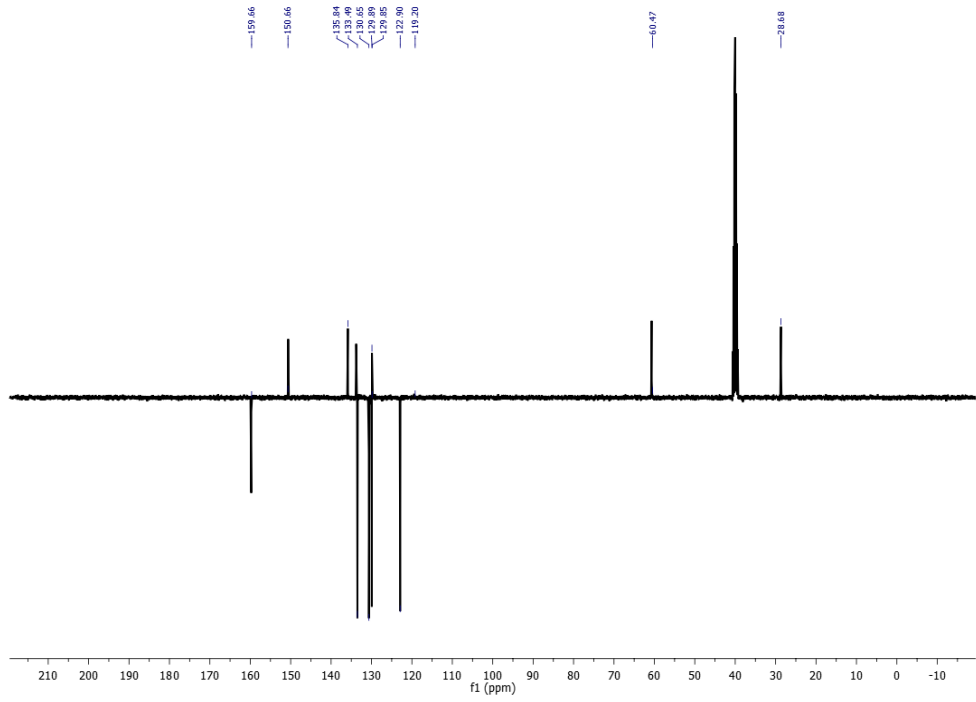
7.EKLER



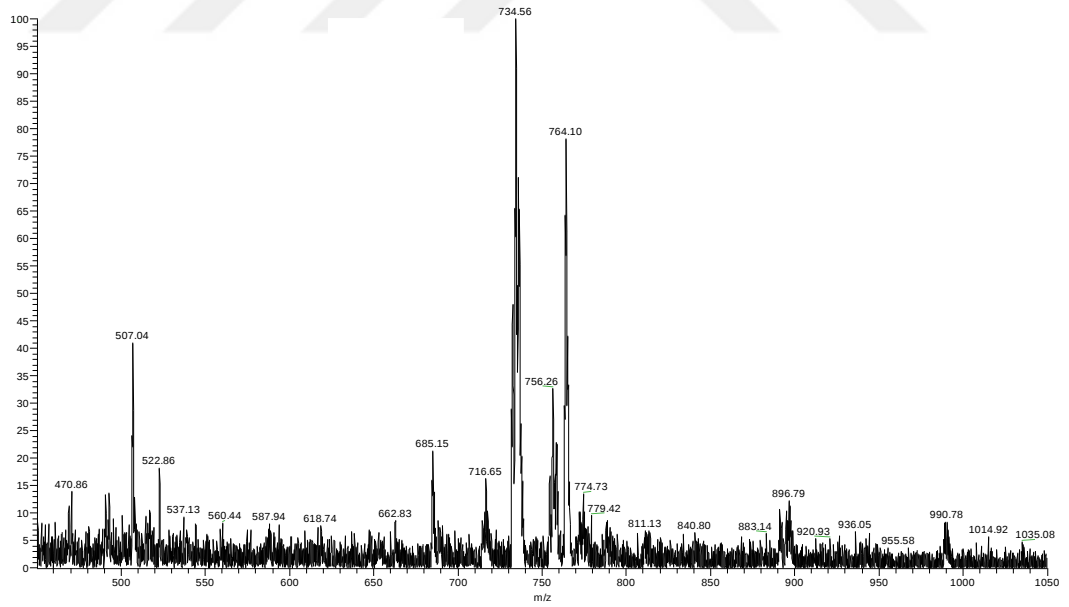
Ek Şekil 1. 2a bileşiğinin FT-IR spektrumu



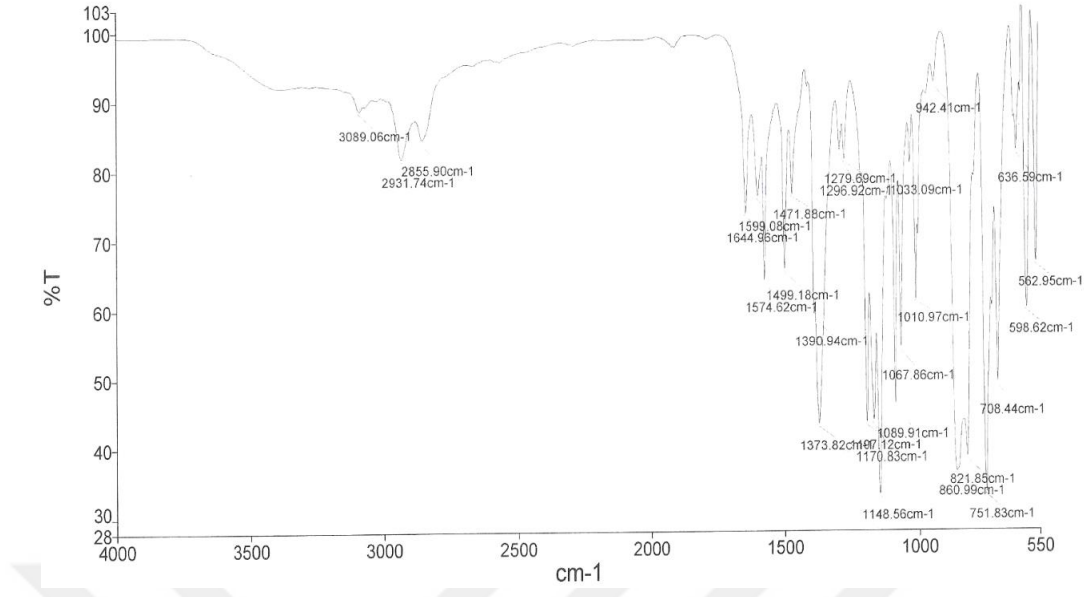
Ek Şekil 2. 2a bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆/ δ)



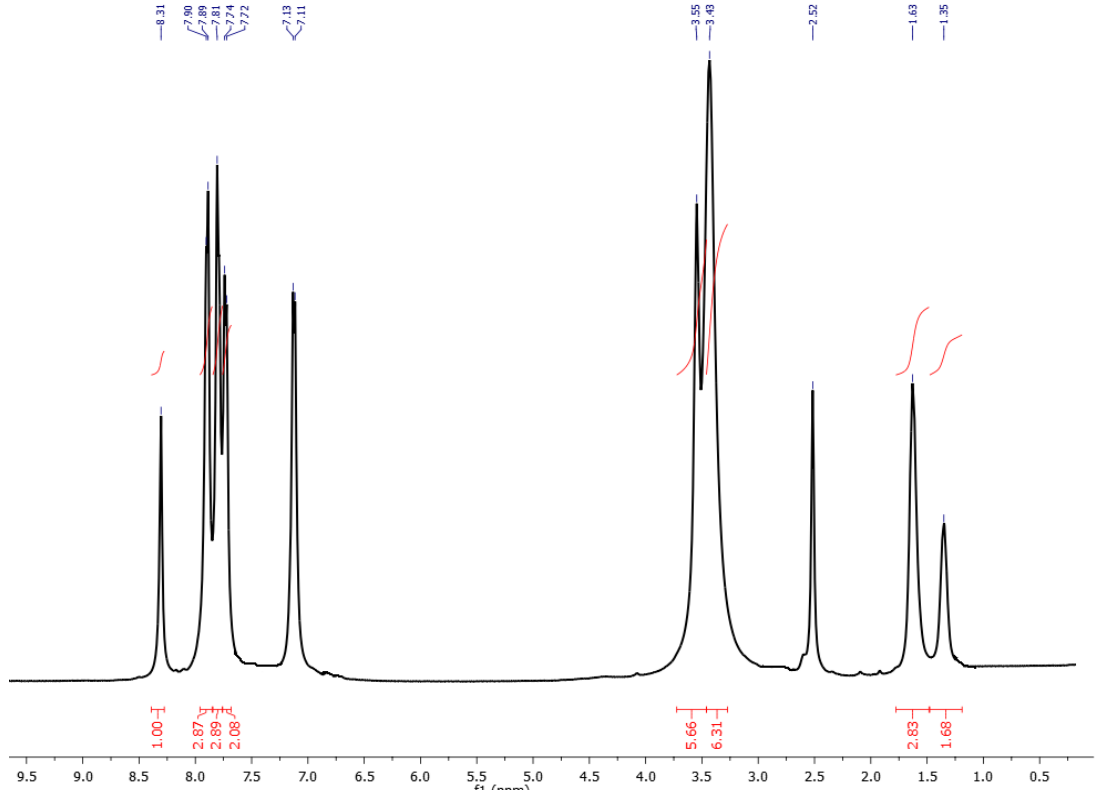
Ek Şekil 3. 2a bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6/δ)



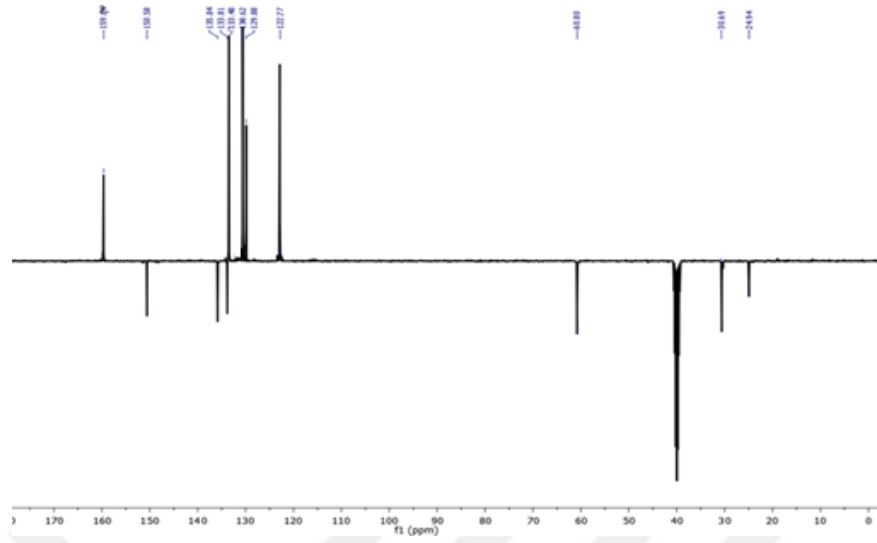
Ek Şekil 4. 2a bileşiğinin Kütle spektrumu



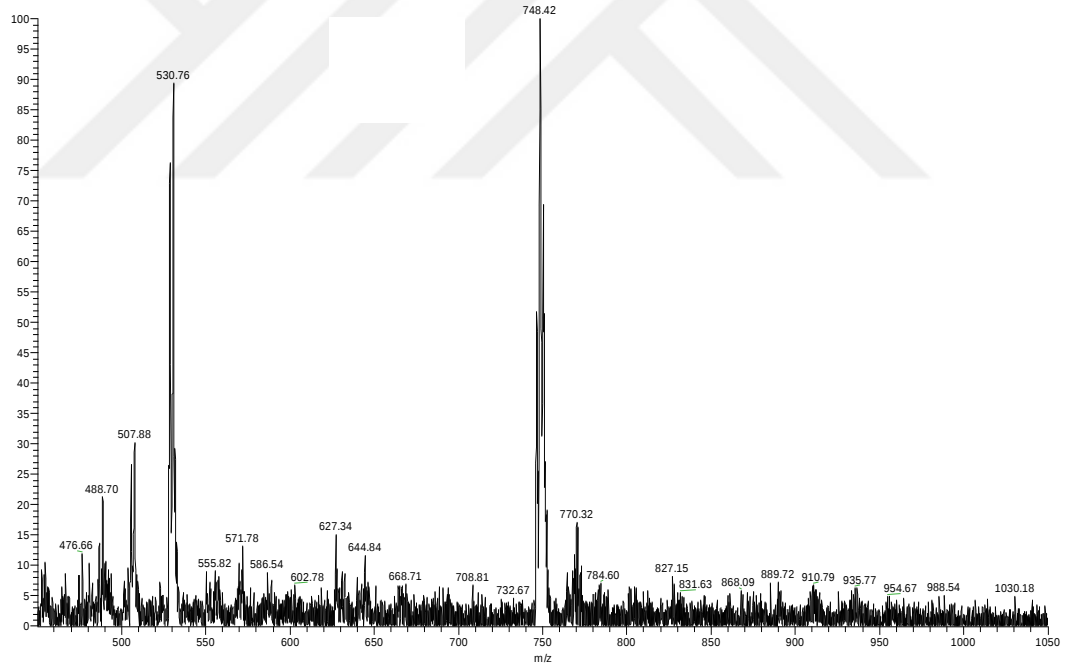
Ek Şekil 5. 2b bileşiğinin FT-IR spektrumu



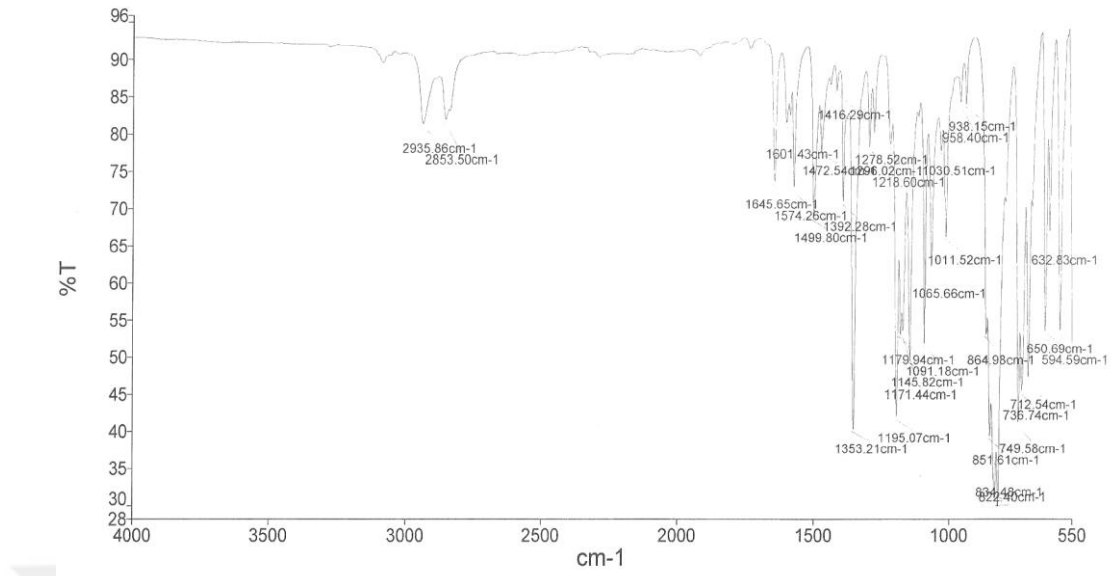
Ek Şekil 6. 2b bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆/ δ)



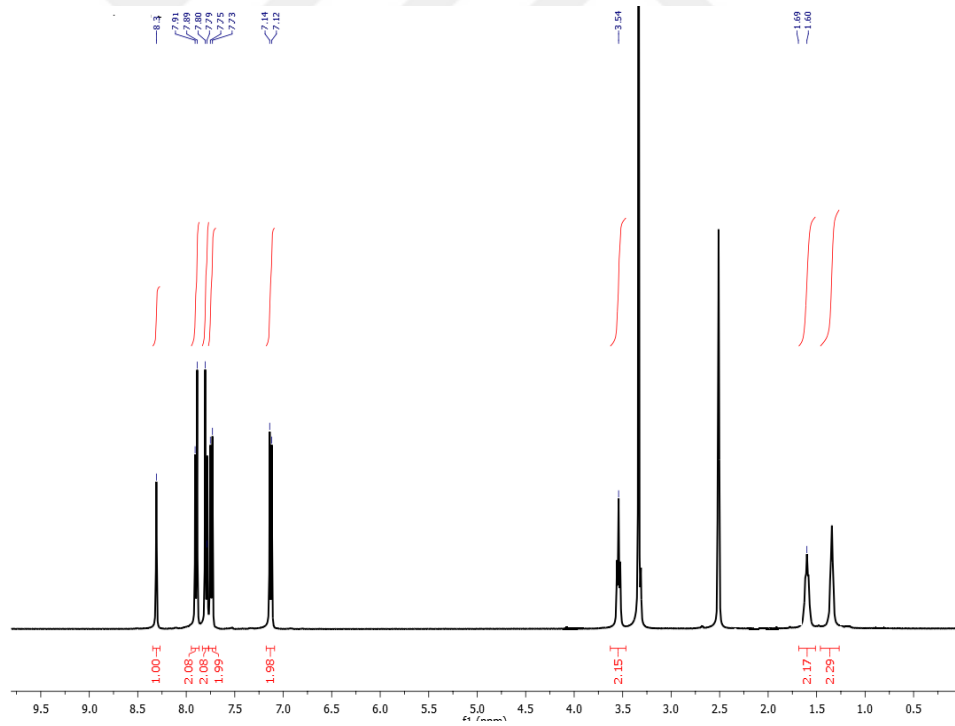
Ek Şekil 7. 2b bileşiğinin ¹³C-NMR(APT) spektrumu (100 MHz, DMSO-d₆/ δ)



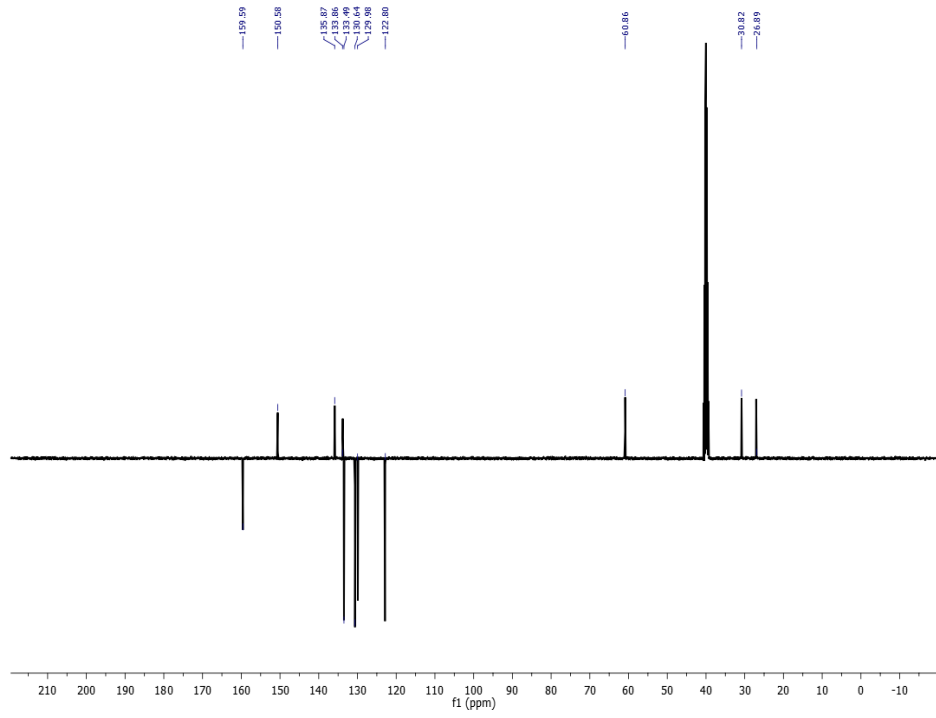
Ek Şekil 8. 2b bileşiğinin Kütle spektrumu



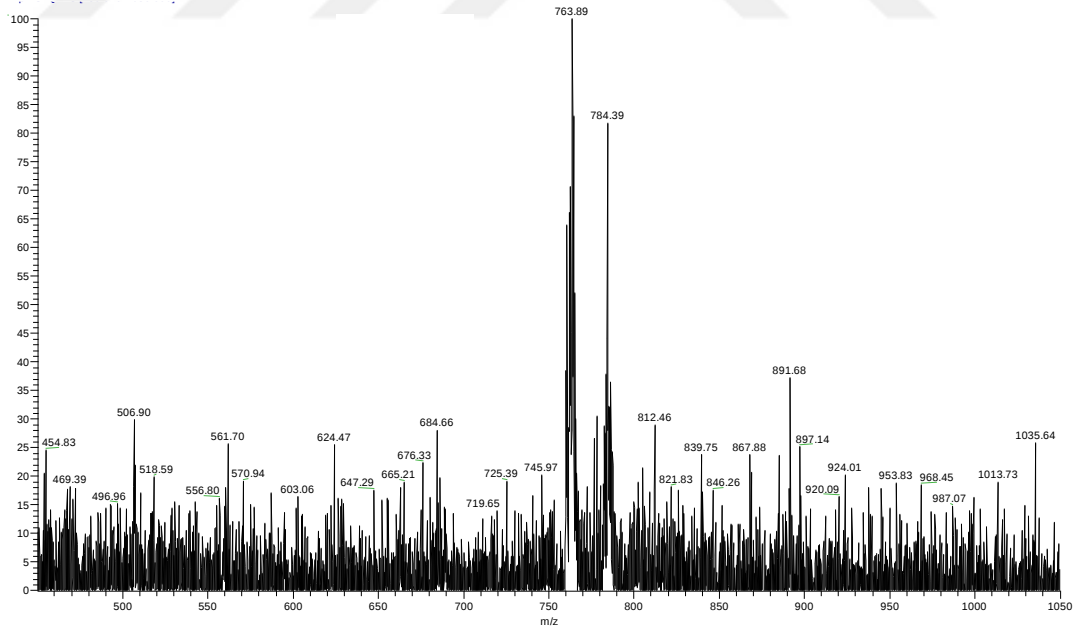
Ek Şekil 9. 2c bileşiğinin FT-IR spektrumu



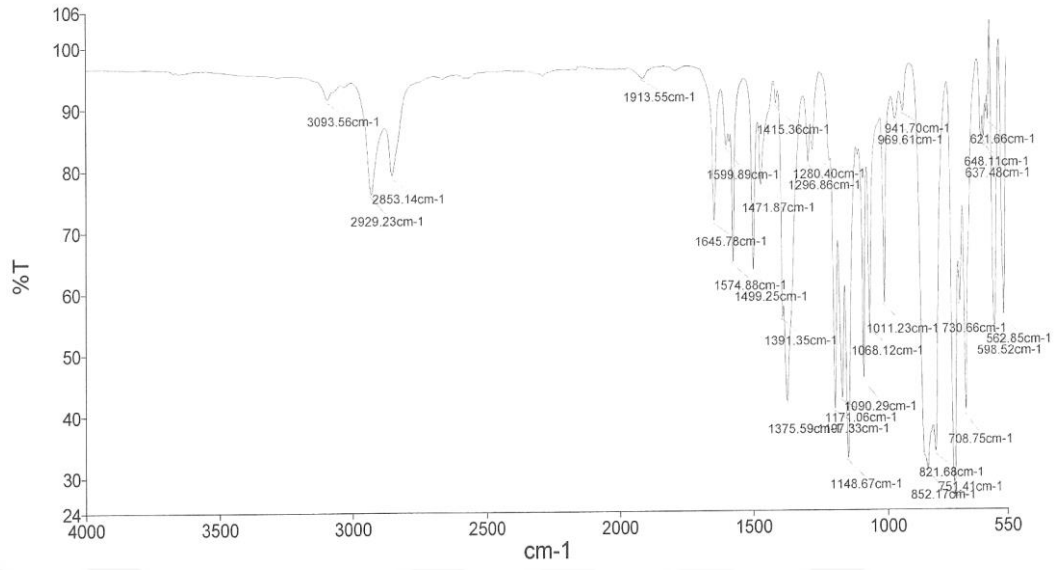
Ek Şekil 10. 2c bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d_6)



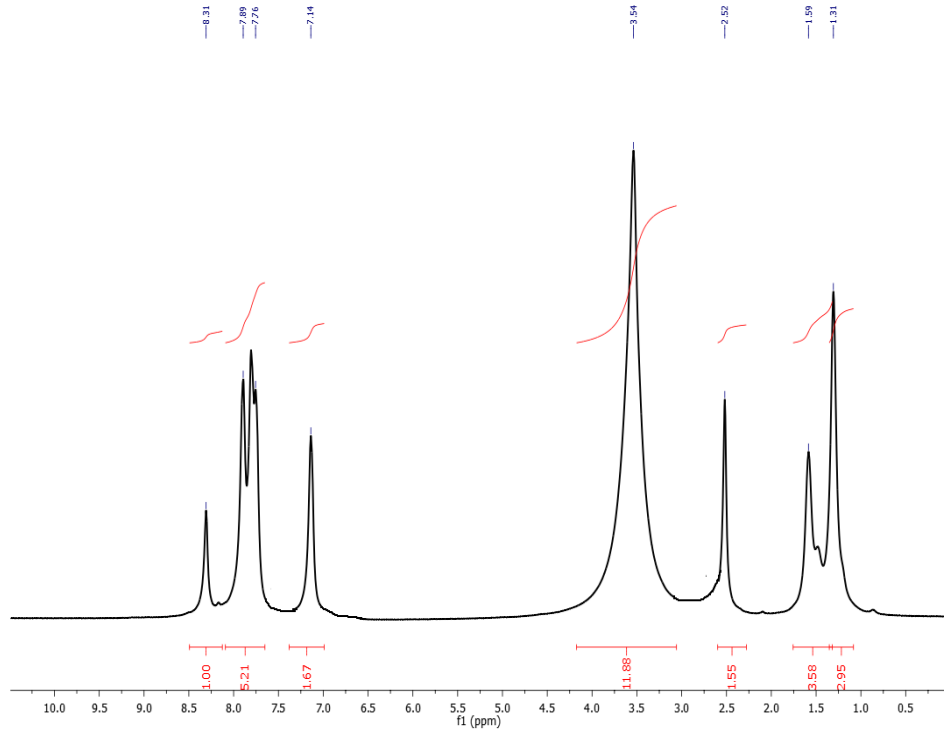
Ek Şekil 11. 2c bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$)



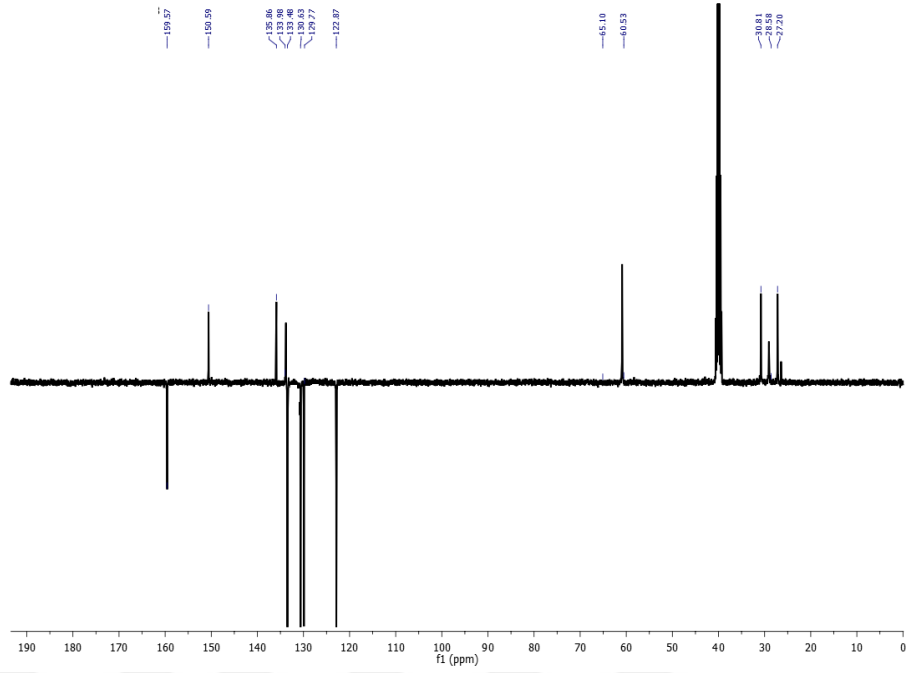
Ek Şekil 12. 2c bileşiğinin Kütle spektrumu



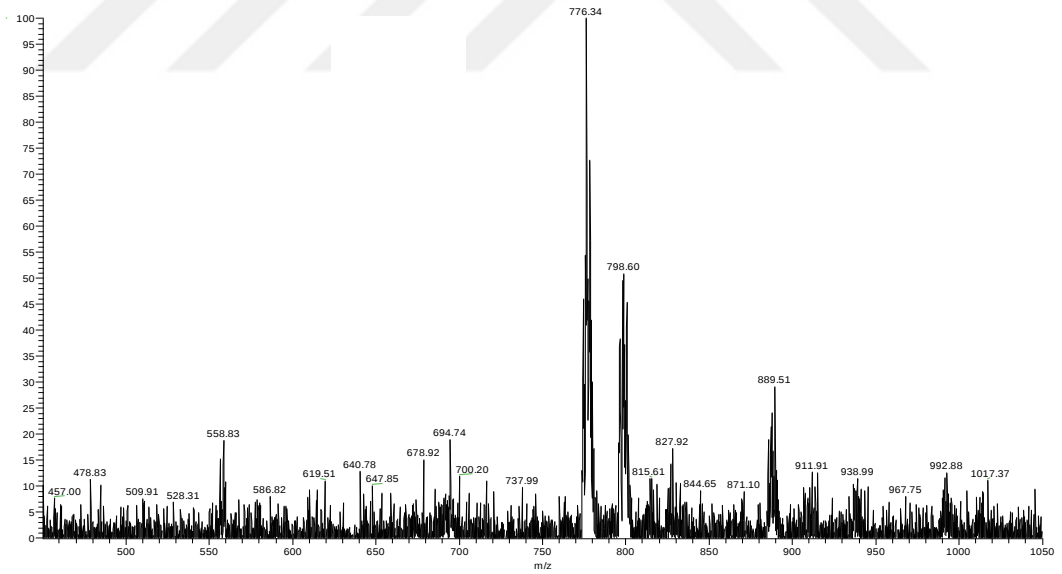
Ek Şekil 13. 2d bileşiğinin FT-IR spektrumu



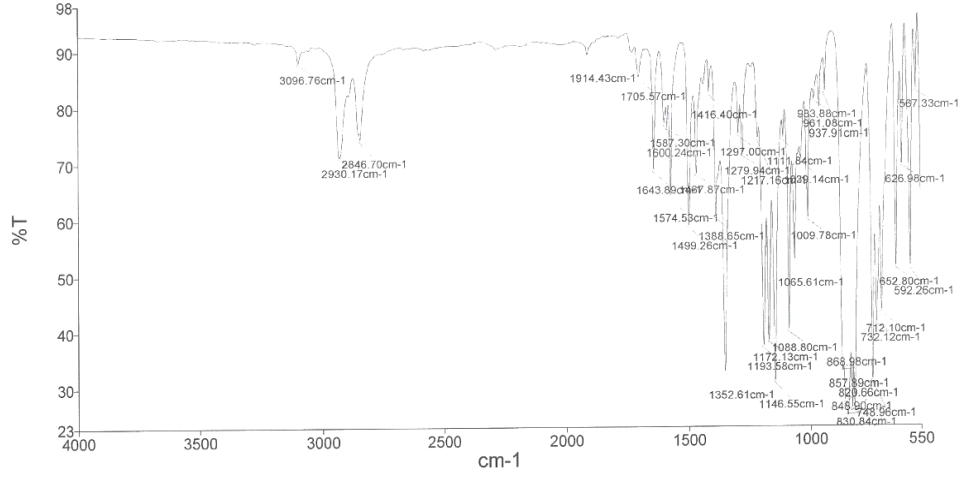
Ek Şekil 14. 2d bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (400 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$)



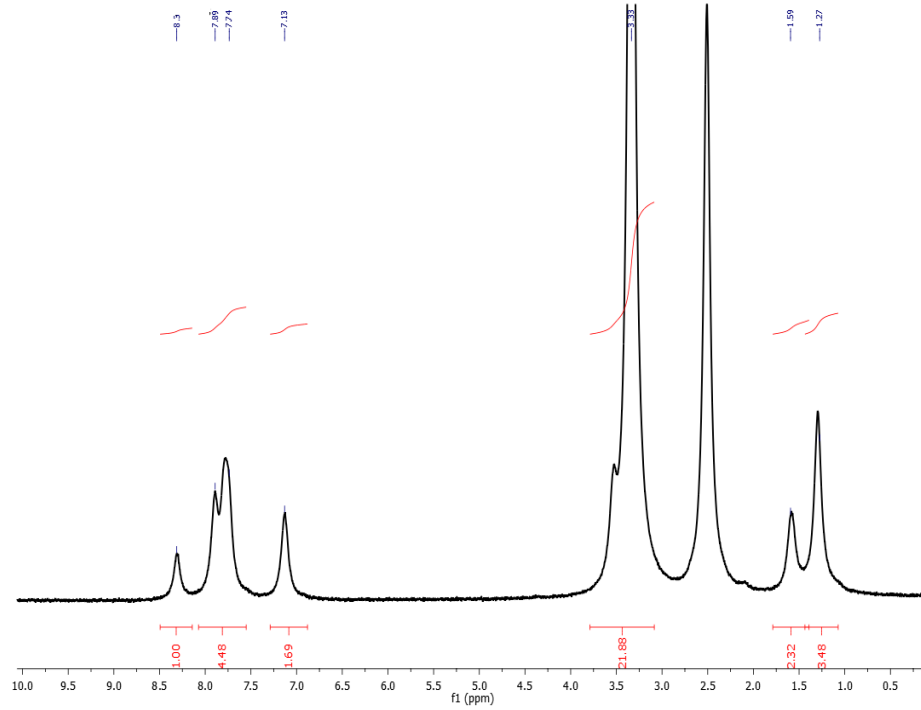
Ek Şekil 15. 2d bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, DMSO- d_6/δ)



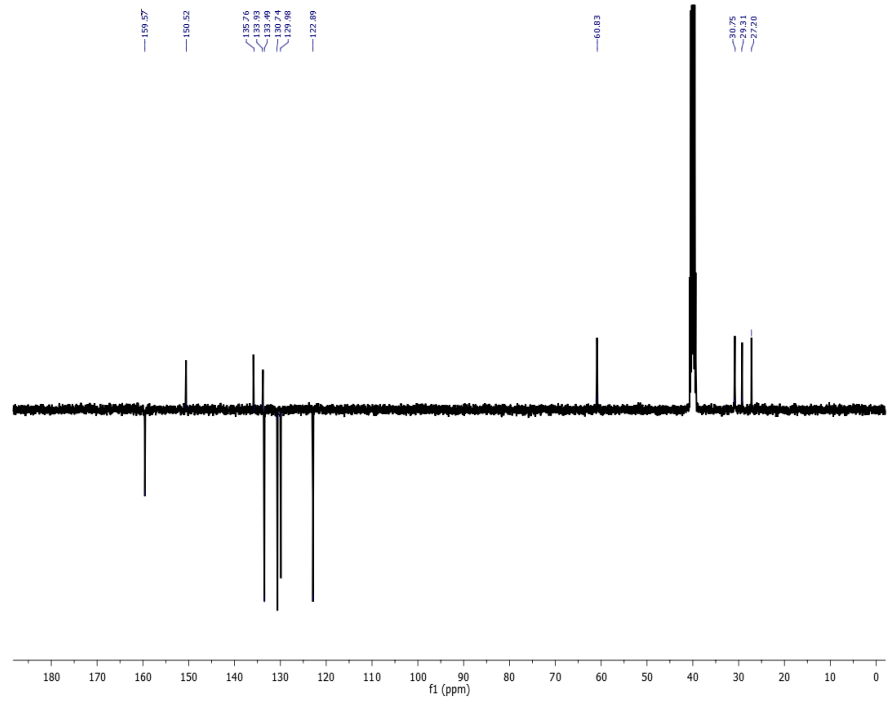
Ek Şekil 16. 2d bileşiğinin Kütle spektrumu



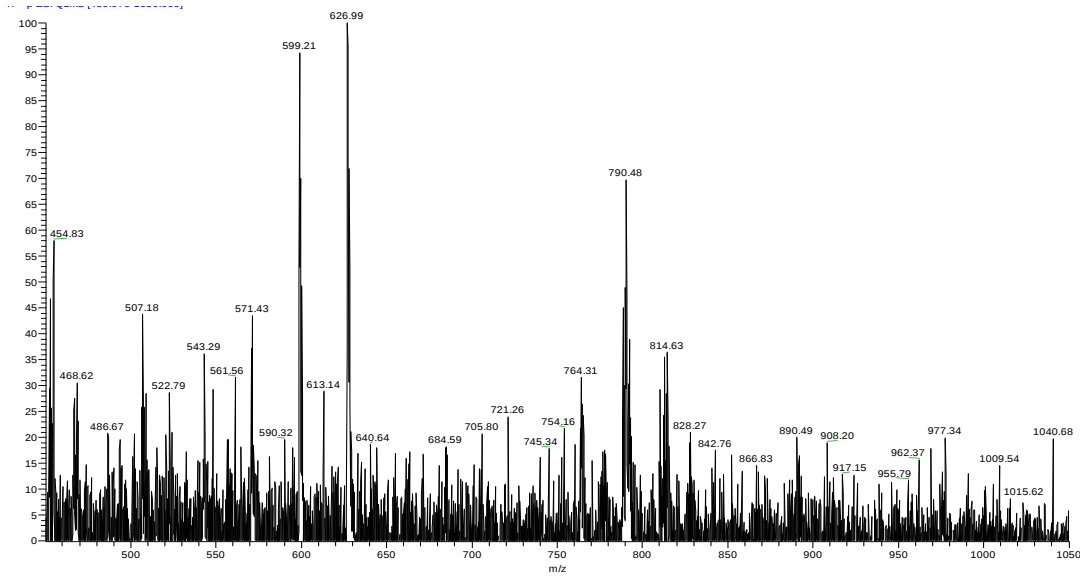
Ek Şekil 17. 2e bileşiğinin FT-IR spektrumu



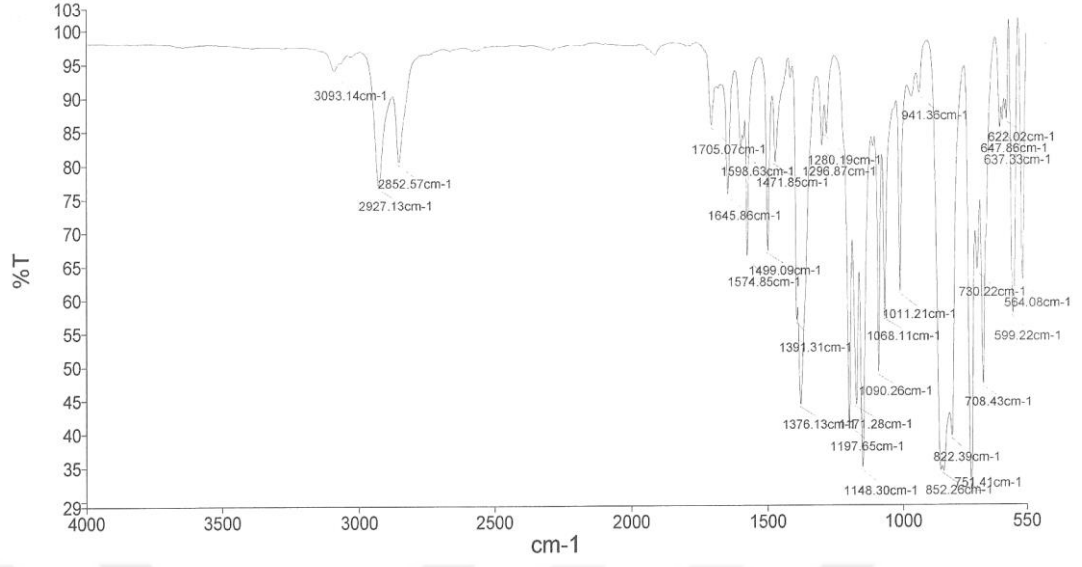
Ek Şekil 18. 2e bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆/ δ)



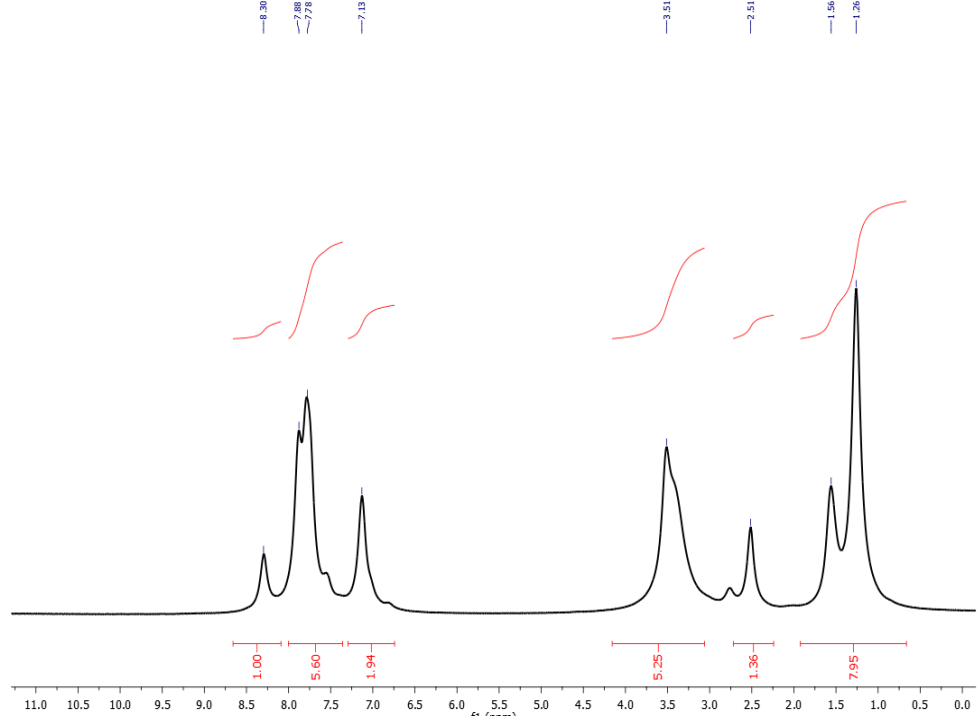
Ek Şekil 19. 2e bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$)



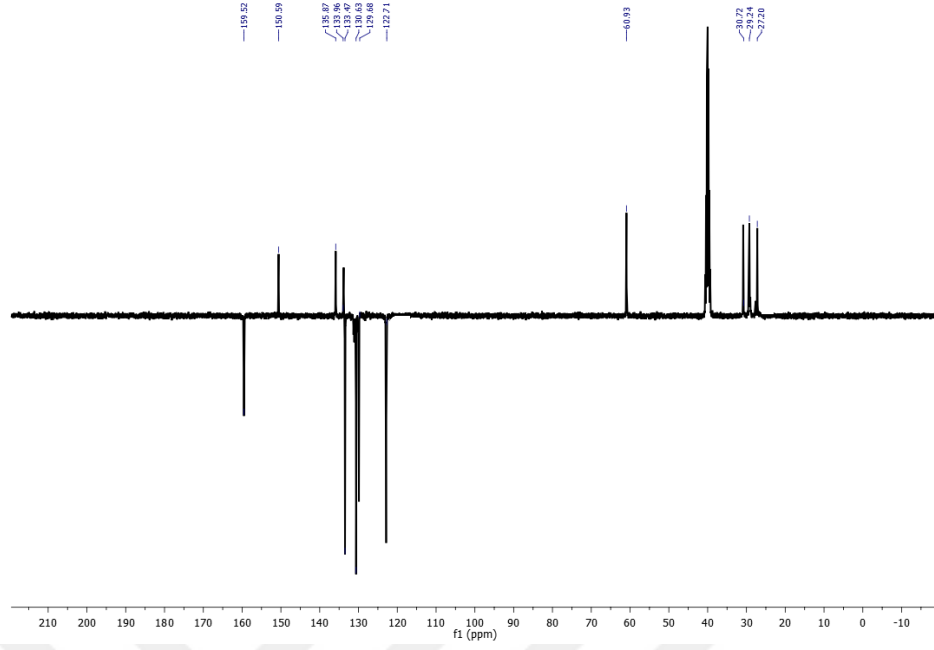
Ek Şekil 20. 2e bileşiğinin Kütle spektrumu



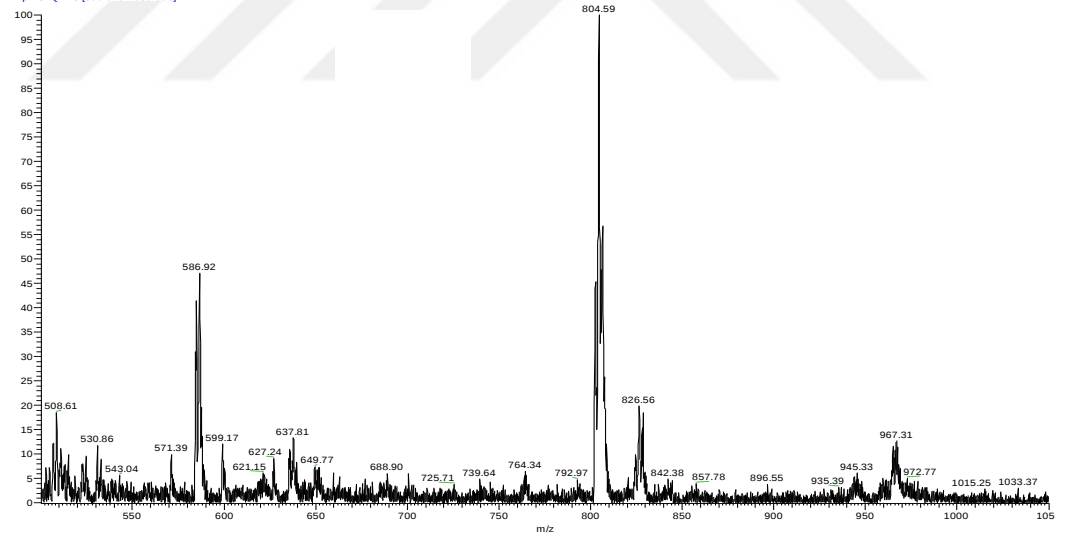
Ek Şekil 21. 2f bileşiğinin FT-IR spektrumu



Ek Şekil 22. 2f bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-d₆/ δ)



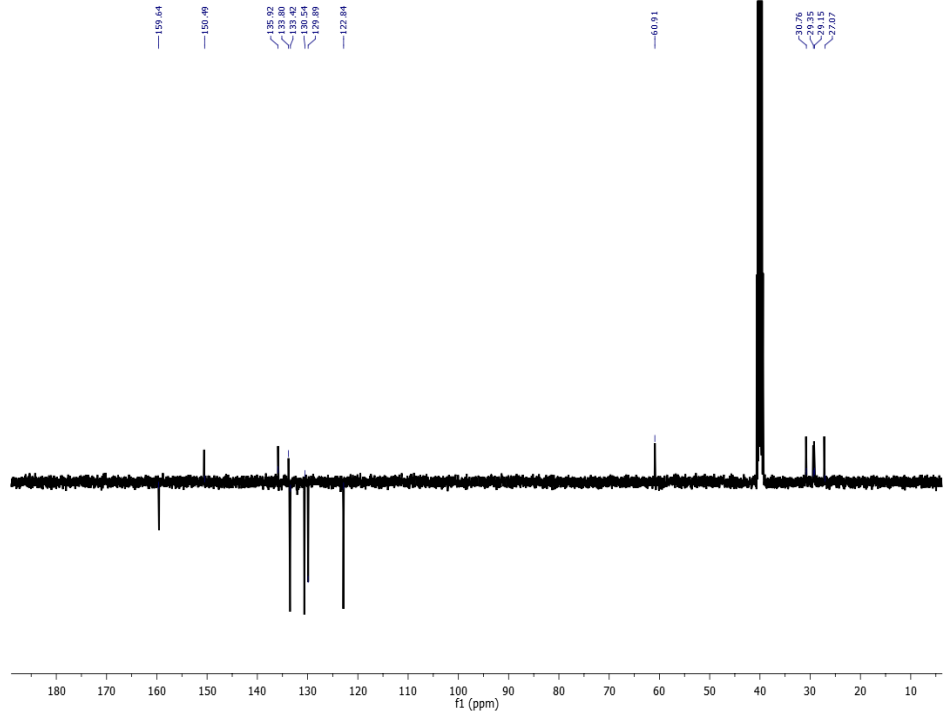
Ek Şekil 23. 2f bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$)



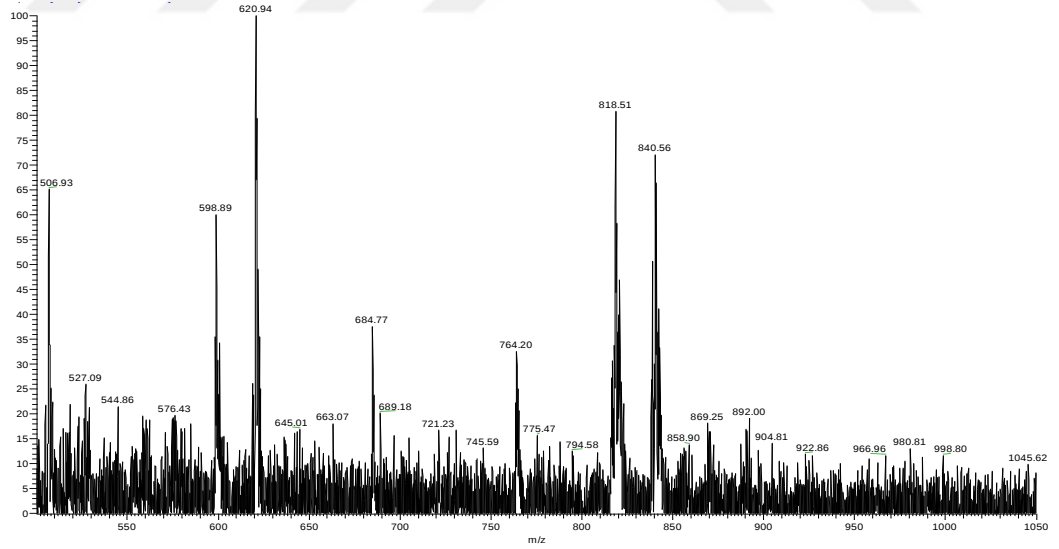
Ek Şekil 24. 2f bileşiğinin Kütlevizyonu

¹H NMR spectrum (CDCl₃) of compound 10a. The spectrum shows peaks at 8.31, 7.94, 7.89, 7.86, 7.78, 7.76, 7.74, 7.14, 7.12, 3.54, 1.59, and 1.38 ppm. Integration values are 1.00, 2.56, 4.15, 1.94, 2.26, 2.39, and 7.23. The x-axis is labeled f1 (ppm) from 10.5 to 0.0.

Ek Şekil 26. 2g bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6/δ)



Ek Şekil 27. 2g bileşiğinin ^{13}C -NMR(APT) spektrumu (100 MHz, $\text{DMSO-d}_6/\delta$)



Ek Şekil 28. 2g bileşiğinin Kütle spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Tuğba USTA, İlköğrenimini Beşikdüzü Şehit Öğretmen Gürhan Yardım İlköğretim Okulu'nda bitirdikten sonra lise eğitimini Beşikdüzü Atatürk Lisesi'nde 2011 yılında tamamladı. 2018 yılında Hitit Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği bölümünden Kimya Mühendisi unvanı ile mezun oldu. 2021 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalı, Organik Kimya alanında yüksek lisans öğrenimine başlayan Tuğba USTA C1 seviye İngilizce bilmektedir.

Ünver, Y., Usta, T., Çelik, F., Aydın, A., Güler, H. İ., Süleymanoğlu, N., Ustabaş, R. & İnan Bektaş, K. (2025). Synthesis, characterization, investigation of biological activities and *in Silico* studies of Bis 4-Bromobenzene sulphonate compounds. *Journal of Molecular Structure*, volume 1319, part 2.